

К. И. Клименко¹, Т. В. Новохацкая¹, В. И. Поляков²,
О. И. Жуковский², В. Н. Бондарь², А. И. Соловьев¹

Влияние диизопропилфосфат- олигоэтиленгликоля таурохолевой кислоты на выходящие калиевые токи в миоцитах аорты крыс с экспериментальным диабетом

¹ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», г. Киев
²Международный благотворительный фонд «Киевская Русь», г. Киев

Ключевые слова: сосудистые осложнения сахарного диабета, гладкомышечные клетки, K⁺-каналы, желчные кислоты

За последние десятилетия количество пациентов с метаболическим синдромом (МС) и диабетом II типа достигло масштабов эпидемии. МС может быть определен как комплекс различных, но связанных между собой нарушений в организме, таких как ожирение абдоминально-висцерального типа, инсулинорезистентность, дислипидемия, увеличение артериального давления и нарушения в системе свертываемости крови, способствующие развитию тромбозов. МС предшествует возникновению таких болезней, как атеросклероз, артериальная гипертензия и сахарный диабет [1].

Широко известным фактом является сопряженность осложнений сахарного диабета с ухудшением функционального состояния сосудов, что приводит к развитию ретинопатии, нефро- и нейропатии, кардиомиопатии, атеросклероза [2].

Исходя из этого актуальными являются исследования функциональной активности сосудистой стенки в условиях патологии и под влиянием биологически активных веществ, обладающих способностью восстанавливать ее функциональное состояние.

В данной работе были использованы лабораторные образцы препарата Орион, действующим началом которого является диизопропилфосфат-олигоэтиленгликоль таурохолевой кислоты (ДОТК). Этот препарат обладает геро-

протекторными свойствами [3], однако отсутствует информация о его влиянии на функционирование сосудистой стенки при хронических заболеваниях сердечно-сосудистой системы и сахарном диабете.

Таурохолевая кислота, также известная как холетаурин (cholaic acid, cholyltaurine, или acidum cholatauricum), является желчной кислотой (ЖК), которая вовлечена в процесс эмульгирования жиров. Она встречается в виде натриевой соли в желчи млекопитающих. Таурохолевая кислота является конъюгатом холевой кислоты с таурином. В медицинских целях ее используют в качестве холеретического и холекинетического средства [4].

ЖК являются стероидными кислотами, которые в основном встречаются в желчи млекопитающих. В результате соединения ЖК с катионом, обычно натрием, образуются желчные соли. В организме человека соли таурохолевой и гликохолевой кислоты (производных холевой кислоты) составляют около 80 % всех солей ЖК. При изучении состава кишечной желчи человека были обнаружены ЖК, их конъюгаты с глицином и таурином, а также 7-альфа-дегидроксилированные производные (деоксихолевая и литохолевая кислота). Увеличение притока желчи сопряжено с увеличением секреции ЖК, основной функцией которых является участие в формировании мицелл, способствующих переработке пищевых жиров.

Казалось бы, какая связь может существовать между ЖК и функционированием сосудов?

Новая эра в исследованиях желчных кислот (ЖК) началась в 1999 году, когда было установлено [5], что ЖК являются естественными лигандами ядерных фарнезоидных рецепторов (NR1H4), или фарнезол X-рецепторов (FXR), или рецепторов желчной кислоты (BAR).

Дальнейшее изучение роли желчных кислот дало более чем неожиданные результаты. Так, ЖК, связываясь с FXR, играют роль «метаболических интеграторов» в контроле уровня жиров, глюкозы, а также энергетического метаболизма через модуляцию генной экспрессии. Кроме того, ЖК участвуют в сигнальных путях, которые могут быть как зависимыми, так и независимыми от FXR сигнального пути, а также вовлекать G-белок связанный рецептор TGR5/Gpbar1 [1].

Эти знания открыли новые возможности для изучения стратегий профилактики и лечения метаболических заболеваний, включая сахарный диабет. Эксперименты *in vitro* указывают на то, что FXR экспрессируются как в сосудистых гладкомышечных клетках (ГМК) [6], так и в эндотелиальных клетках (ЭК).

В ряде исследований было показано, что активация FXR в сосудистых ГМК крыс приводит к апоптозу, так как индуцирует экспрессию генов-мишеней FXR – SHP (небольшой гетеродимерный компонент), а также PLTP (белок-передатчик фосфолипидов) [7].

С другой стороны, в ЭК FXR непосредственно повышает активацию транскрипции промотера гена эндотелиальной NO-синтазы, что приводит к увеличению продукции NO в сосудистых ЭК [8]. Общеизвестно, что эндотелий играет ключевую роль в регуляции сосудистого тонуса в условиях нормы и патологии. Дисбаланс между вазодилаторным агентом NO и эндотелином-1, который является вазоконстриктором, способствует развитию эндотелиальной дисфункции, что особенно ярко выражается при инсулинорезистентности и сахарном диабете.

Показано, что пул желчных кислот существенно увеличивается при некоторых моделях сахарного диабета

I типа у крыс, таких как диабетические крысы линии Вистар, а также у крыс после введения стрептозотоцина или аллоксана [9]. Вполне вероятно, что FXR может быть также одной из молекулярных связей между измененным метаболизмом ЖК и диабетическим статусом.

В 2007 году Kobayashi и др. [10] доказали наличие молекулярных связей между желчными кислотами и метаболизмом глюкозы. Более того, они также предположили, что метаболические пути желчных кислот могут являться новыми фармакологическими мишенями для лечения инсулинорезистентности и сахарного диабета.

Цель исследования – изучение влияния ДОТК на суммарный выходящий калиевый ток в гладкомышечных клетках аорты крыс с экспериментальным диабетом.

Материалы и методы. *Индукция сахарного диабета.* Исследования проводили на самцах крыс линии Вистар (180–200 г). Диабет был индуцирован однократным внутривентральным введением стрептозотоцина (STZ) в дозе 60–65 мг/кг. Развитие экспериментального диабета оценивали по наличию гипергликемии.

Концентрацию глюкозы в крови измеряли через 1 мес после введения STZ и в день эксперимента. STZ растворяли в цитратном буферном растворе, который содержал 0,9 % NaCl и 10 мМ цитрата, pH = 4,6. Концентрацию глюкозы определяли с помощью глюкометра Bionime (BIONIME Rightest GM 300, Швейцария).

Изоляция одиночных гладкомышечных клеток аорты крысы. Все опыты на животных проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите животных, используемых в экспериментальных и других целях, и были одобрены комитетом по этике института.

Изолированные гладкомышечные клетки выделяли из грудного отдела аорты взрослых крыс линии Вистар (180–200 г) с помощью коллагеназы. После предварительной интраперитонеальной анестезии (кетамин 45 мг/кг, ксилазин 10 мг/кг) животным

была проведена этаназия путем декапитации с последующим обескровливанием.

Сегменты грудной аорты длиной 1,0–1,5 см вырезали и очищали от соединительной ткани. Затем аорту разрезали на маленькие кусочки (2×2 мм), которые помещали в холодный безкальциевый раствор, содержащий (в ммол/л): 140 NaCl; 5,9 KCl; 2,5 MgCl₂; 11,5 глюкозы; 10 HEPES (pH = 7,4), на 10–15 мин. После этого ткани переносили в аналогичный раствор с добавлением 2 мг/мл коллагеназы (тип IA), 0,5 мг/мл проназы E и 2 мг/мл бычьего сывороточного альбумина и инкубировали на протяжении 33 мин при 37 °С. Затем их переносили в безкальциевый раствор для отмычки от ферментов. Клетки выделяли путем многократного пипетирования и помещали в нормальный раствор Кребса. Миоциты хранили в холодильнике при + 5 °С. Они оставались в хорошем функциональном состоянии в течение не менее 4 ч.

Регистрация выходящего тока. Для регистрации калиевых токов был использован метод фиксации потенциала (patch-clamp) в модификации «целая клетка» («whole-cell perforated patch») с использованием амфотерицина В. Ионные токи регистрировали с применением усилителя Axopatch 200B и конвертора Digidata 1200B (Axon Instruments Inc., Foster City, CA, USA), сопряженных с IBM-совместимым компьютером с соответствующим программным обеспечением (pClamp software, version 8, Axon Instruments Inc., USA). Мембранные токи отфильтровывали с частотой среза 2 кГц и оцифровывали с частотой 10 кГц. Референтный Ag-AgCl электрод был размещен непосредственно в камере для клеток объемом 200 мкл.

В начале каждого эксперимента электродный потенциал нивелировался до нуля. Компенсацию токов утечки при регистрации трансмембранных токов не проводили, клетки с большим током утечки исключали из опыта. Амплитуды токов выражали как пА/пФ. Мембранную емкость клеток оценивали путем интегрирования емкостных токов, возникающих при гиперпо-

лярзирующем смещении потенциала на 10 мВ, после электронного устранения токов через емкость пипетки с помощью Clampfit software (version 8, Axon Instruments Inc., USA). Все эксперименты проводили при температуре 20 °С.

Микропипетки изготовлены из боросиликатного стекла (Clark Electromedical Instruments, Pangbourne Reading, England). Их заполняли пипеточным раствором следующего состава (в ммол/л): 140 KCl; 10 NaCl; 1,2 MgCl₂; 2,5 CaCl₂; 10 HEPES, 11,3 D-глюкоза, 2 EGTA и 1 CaCl₂ (pH = 7,3); амфотерицин В (250 мкг/мл). Пипетки имели сопротивление 2,5–5,0 МОм. Внеклеточный раствор содержал (в ммоль/л): 140 NaCl; 5,9 KCl, 1,2 MgCl₂; 2,5 CaCl₂; 10 HEPES, 11,3 D-глюкозы (pH=7,4).

Реактивы. Амфотерицин В, коллагеназа (тип IA), проназа E, бычий сывороточный альбумин, компоненты раствора Кребса, HEPES были произведены Sigma Chemicals Co. (St. Lois, MO, USA).

Статистическая обработка результатов. Результаты электрофизиологических измерений и данные регистрации сократительной активности гладких мышц представлены в виде среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего (m) для определенной выборки (n). n – число исследованных клеток, причем все клетки были получены от разных животных.

Множественные сравнения между величинами проводили с помощью теста ANOVA. Если обнаруживали достоверную разницу в параметрах, то использовали пост-тест Тьюки. Отличия считали достоверными, если P было меньше 0,05.

Результаты и их обсуждение. Существующие данные указывают на способность ЖК вызывать релаксацию гладких мышц как *in vitro* так и *in vivo* [11]. Тем не менее, молекулярные механизмы, лежащие в основе такой релаксации, практически неизвестны.

В первой серии экспериментов было исследовано влияние различных концентраций (10^{-6} М и 10^{-5} М) ДОТК на

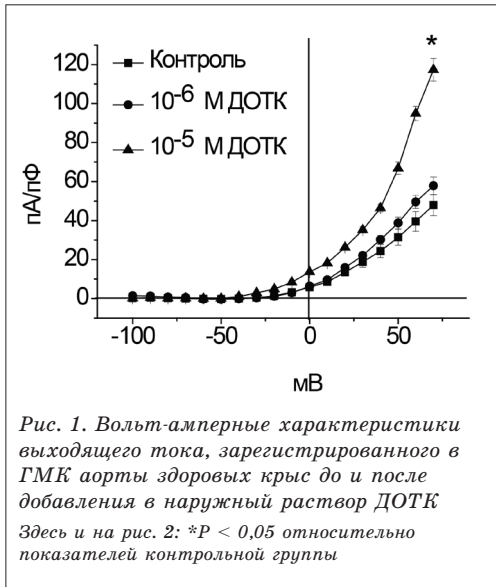


Рис. 1. Вольт-амперные характеристики выходящего тока, зарегистрированного в ГМК аорты здоровых крыс до и после добавления в наружный раствор ДОТК
Здесь и на рис. 2: * $P < 0,05$ относительно показателей контрольной группы

суммарный выходящий калиевый ток изолированных ГМК аорты контрольных крыс. Аппликацию препарата проводили непосредственно в камеру рабочей установки, где находились изолированные ГМК аорты крысы.

Полученные результаты свидетельствуют об увеличении плотности суммарного выходящего тока с $47,90 \pm 5,38$ пА/пФ ($n = 6$) в интактных ГМК здоровых крыс до $57,82 \pm 4,51$ пА/пФ ($n = 5$, $P < 0,05$) после аппликации ДОТК в концентрации 10^{-6} М (рис. 1). Большой прирост тока был получен после аппликации ДОТК в концентрации 10^{-5} М – в этом случае величина выходящего тока составляла $117,33 \pm 5,75$ пА/пФ ($n = 6$, $P < 0,05$) (рис. 1). Зарегистрированный эффект ДОТК, как препарата на основе таурохолевой кислоты, на активность VK_{Ca} совпадает с данными других исследователей [12]. Так, есть данные о том, что ЖК влияют на функциональную активность гладких мышц сосудов, в основном за счет VK_{Ca} [12]. В частности, показано возрастание активности VK_{Ca} при действии различных ЖК (холевой, деоксихолевой, литохолевой, а также таурохолевой) в ГМК брыжеечных артерий здоровых кроликов [12]. Кроме того, идентичный эффект наблюдался и в ГМК легочной артерии и желчного пузыря кролика, желчного пузыря и кишечника морских свинок, матки

крыс [13], что свидетельствует о том, что непосредственная активация VK_{Ca} желчными кислотами является общим механизмом для различных типов ГМК. Возможным механизмом такой активации может быть непосредственное взаимодействие или собственно с канальным комплексом, или с тесно связанным с ним фосфолипидным окружением [12].

Целью следующей серии экспериментов стало изучение влияния ДОТК на суммарный выходящий калиевый ток в ГМК крыс с экспериментальным диабетом.

Диабетические крысы были взяты в эксперимент на 31 день после внутрибрюшинной инъекции STZ. Концентрация глюкозы в крови диабетических крыс составляла $30,7 \pm 0,9$ ммМ/л ($n = 6$; $P < 0,05$) и была достоверно выше, чем в крови крыс контрольной группы ($7,1 \pm 1,4$ ммМ/л, $n = 6$). Величина суммарного выходящего тока в ГМК крыс с экспериментальным диабетом существенно отличалась от контрольной группы и составляла $22,1 \pm 1,61$ пА/пФ ($n = 8$; $P < 0,05$) (рис. 2).

Хорошо известно, что выраженность сосудистых осложнений при сахарном диабете в значительной степени определяется степенью снижения вазодилаторного потенциала сосудистой стенки, который, в свою очередь, зависит от функции калиевых каналов в ГМК и ЭК [14]. При этом функциональная способность эндотелия сосудов секретировать и освобождать эндотелиальные

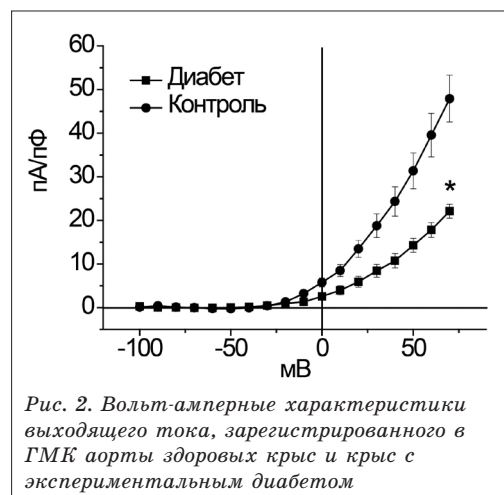


Рис. 2. Вольт-амперные характеристики выходящего тока, зарегистрированного в ГМК аорты здоровых крыс и крыс с экспериментальным диабетом

факторы релаксации, в частности, оксид азота [2], резко снижается.

Установлено, что основной вклад в процесс гиперполяризации плазматической мембраны ГМК принадлежит Ca^{2+} -активируемому K^+ -каналам большой проводимости (BK_{Ca}) [15], вследствие активации которых происходит выход ионов K^+ , развитие гиперполяризации, что, в свою очередь, препятствует открытию Ca^{2+} -каналов, входу Ca^{2+} и последующей констрикции ГМК. Таким образом, нарушение функционирования K^+ -каналов является одной из основных составляющих развития сосудистой дисфункции.

Апликация ДОТК в концентрации 10^{-6} М приводила к достоверному возрастанию суммарного выходящего калиевого тока в ГМК диабетических крыс до $27,2 \pm 0,99$ пА/пФ ($n = 6$; $P < 0,05$). Увеличение концентрации ДОТК до 10^{-5} М способствовало увеличению его эффекта до $29,1 \pm 0,78$ пА/пФ ($n = 7$; $P < 0,05$) (рис. 3).

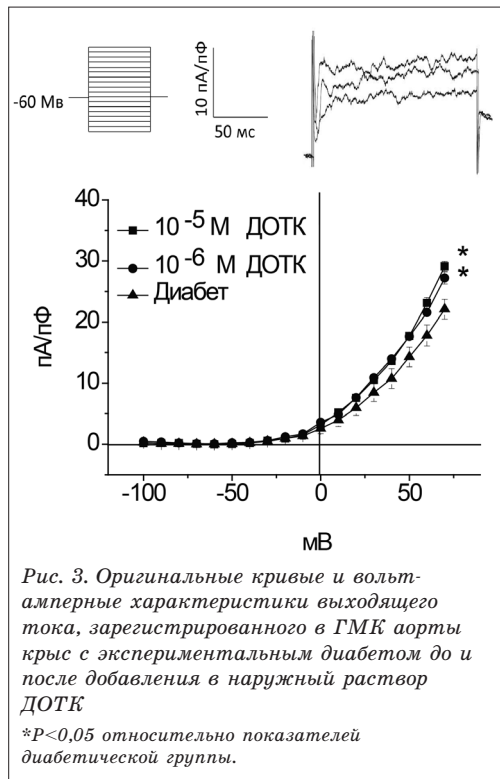
Такой эффект может быть связан с тем, что в результате гидролиза таурохолевой кислоты образуется таурин. Работы некоторых исследователей

показывают, что таурин способен снижать количество оксида азота путем связывания хлорноватистой кислоты, что, в свою очередь, вызывает вазоконстрикцию [16]. С недавнего времени в научных публикациях стали появляться данные, демонстрирующие эффективность таурина при лечении сахарного диабета, инсулинорезистентности, а также их осложнений. В частности, продолжительное введение таурина нормализуют ацетилхолин-индуцированное расслабление колец аорты крыс с сахарным диабетом [17].

Появляются новые результаты в исследованиях биологических эффектов таурина на сосудистую стенку в условиях нормы и патологии [18]. Показано, что таурин оказывает положительное влияние на функционирование сосудистой стенки как у спонтанно-гипертензивных крыс, вызывая снижение артериального давления [19], так и у крыс с экспериментальным диабетом (восстанавливая нарушения реактивности сосудов, вызванные окислительным стрессом и воспалением) [18], действуя как прямо, так и опосредовано. Среди возможных механизмов, которые вовлечены в нормализацию реактивности сосудов под действием таурина, кроме указанных выше, следует назвать активацию различных типов K^+ -каналов (K_{IR} , K_{ATP} и K_{Ca}) [20], возрастание продукции оксида азота и антиоксидантное действие [21]. Кроме того, такие эффекты могут быть вызваны снижением активации регуляторного фермента протеинкиназы С [22].

Выводы

Таким образом, в результате наших исследований показано, что ДОТК вызывает возрастание амплитуды суммарного выходящего K^+ -тока изолированных сосудистых ГМК как здоровых крыс, так и крыс с экспериментальным диабетом. Это свидетельствует о способности препарата увеличивать вазодилаторный потенциал сосудистой стенки при диабете, что позволяет рекомендовать его после проведения дальнейших исследований для лечения диабетических осложнений.



1. Role of bile acids receptors in metabolic regulation / P. Lefebvre, B. Carou, F. Lien [et al.] // *Physiol. Rev.* – 2009. – V. 89. – P. 147–191.
2. Mark A. Diabetes and Vascular Disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I / A. C. Mark, T. F. L. scher // *Circulation.* – 2003. – V. 108. – P. 1527–1532.
3. Влияние препарата «Орион» на выживаемость в стрессорных условиях и продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* / X. K. Мурадян, В. Н. Бондарь, В. В. Безруков [и др.] // *Журн. АМН Украины* – 2009. – Т. 15, № 3. – С. 246–262.
4. Lambert M. *Surhone*, Mariam T. Tennoe, Susan F. Henssonow. Taurocholic Acid. – 2011. – P. 104.
5. Identification of a nuclear receptor for bile acids / M. Makisima, A. V. Okamoto, J. J. Repa [et al.] // *Science.* – 1999. – V. 284. – P. 1362–1365.
6. Bishop-Bailey D. Expression and activation of the farnesoid X receptor in the vasculature / D. Bishop-Bailey, T. D. Walsh, T. D. Warner // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2004. – V. 101. – P.3668–3673.
7. Farnesoid X receptor ligand inhibit vascular smooth muscle cell inflammation and migration / Y. T. Li, K. E. Swales, G. J. Thomas [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vas. Biol.* – 2007. – V. 27. – P. 2606–2611.
8. FXR-mediated regulation of eNOS expression in vascular endothelial cells / J. Li, A. Wilson, R. Kuruba [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – V. 77. – P. 169–177.
9. Nervi F. O. Studies on cholesterol metabolism in the diabetic rats / F. O. Nervi, A. Gonzalez, V. D. Valdivieso // *Metabolism.* – 1974. – V. 23. – P. 495–503.
10. Prevention and Treatment of Obesity? Insulin resistance and diabetes by bile acid-binding resin / M. Kobayashi, H. Ikegami, T. Fujisawa [et al.] // *Diabetes.* – 2007. – V. 56. – P. 239–247.
11. Bomzon A. Bile acids as endogenous vasodilators? / A. Bomzon, P. Ljubuncic // *Biochem. Pharmacol.* – 1995. – V. 49. – P. 581–589.
12. Dopico A. Natural Bile Acids and Synthetic Analogues Modulate Large Conductance Ca^{2+} -activated K^{+} (BK_{Ca}) Channel Activity in Smooth Muscle Cells / A. Dopico, J. Walsh, J. Singer // *Journal of General Physiology.* – 2002. – V. 119 (3).
13. Actions of bile salts and of papaverine and intracellular cyclic AMP in isolated rat uterus / T. Uruno, I. Takayanagi, K. Kubota, K. Takagi // *Eur. J. Pharmacol.* – 1975. – V. 32. – P. 116–119.
14. 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.
15. Nelson M. T. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle / M. T. Nelson, J. M. Quayle // *Am. J. Physiol.* – 1995. – V. 268. – P. C799–C822.
16. Pennathur S. Oxidative stress and endothelial dysfunction in vascular disease / S. Pennathur, J. W. Heinecke // *Curr. Diab. Rep.* – 2007. – V. 7. – P. 257–264.
17. Taurine rescues vascular endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: correlated with downregulation of LOX-1 and ICAM-1 expression on aortas / K. L. J. Wang, Y. H. Yu, L. G. Zhang [et al.] // *Eur. J. pharmacol.* – 2008. – V. 597. – P. 75–80.
18. Worku A. Role of taurine in the vasculature: an overview of experimental and human studies / A. Worku, M. S. Mozaffari. // *Am. J. Cardiovasc. Dis.* – 2011. – V. 1 (3). – P. 293–311.
19. Militante J. D. Treatment of hypertension with oral taurine: experimental and clinical studies / J. D. Militante, J. B. Lombardini // *Amino Acids.* – 2002. – V. 23. – P. 381–393.
20. Effect of taurine on contractions of the porcine coronary artery / Y. Liu, L. Niu, W. Zhang, L. Cui [et al.] // *Pharmacol. Rep.* – 2009. – V. 61. – P. 681–689.
21. Taurine diabetes interaction: from involvement to protection / S. J. Kim, C. Ramesh, H. Gupta, W. Lee // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* – 2007. – V. 21. – P. 63–77.
22. Abebe W. Effects of taurine on the reactivity of aortas from diabetic rats / W. Abebe // *Life Sci.* – 2008. – V. 82, № 5–6. – P. 279–89.

**К. И. Клименко, Т. В. Новохацкая, В. И. Поляков, О. И. Жуковский,
В. Н. Бондарь, А. И. Соловьев**

Влияние диизопропилфосфат-олигоэтиленгликоля таурохолевой кислоты на выходящие калиевые токи в миоцитах аорты крыс с экспериментальным диабетом

Целью данного исследования стало изучение влияния диизопропилфосфат-олигоэтиленгликоля таурохолевой кислоты (ДОТК), действующего вещества препарата Орион, на суммарный выходящий калиевый ток в гладкомышечных клетках (ГМК) аорты здоровых крыс и крыс с экспериментальным диабетом. Исследование было проведено с применением методики индукции диабета (стрептозотоциновая модель), методики ферментативного выделения гладкомышечных клеток аорты, а также методики регистрации трансмембранных ионных токов patch-clamp. Суммарный выходящий K^{+} -ток в ГМК аорты здоровых животных при максимальном уровне деполяризации +70 мВ составлял $47,90 \pm 5,38$ пА/пФ ($n = 6$). ДОТК в концентрации 10^{-6} М вызывал увеличение тока до $57,82 \pm 4,51$ пА/пФ ($n = 5$, $P < 0,05$) и до $117,33 \pm 5,75$ пА/пФ ($n = 6$, $P < 0,05$) после аппликации препарата в концентрации 10^{-5} М. В ГМК диабетических животных зарегистрировано значительное снижение амплитуды выходящего K^{+} -тока до $22,1 \pm 1,61$ пА/пФ ($n = 8$; $P < 0,05$). Аппликация препарата в концентрациях 10^{-6} М и 10^{-5} М вызвала увеличение плотности K^{+} -тока до $27,20 \pm 0,99$ пА/пФ ($n = 6$; $P < 0,05$) и

29,10 ± 0,78 пА/пФ (n = 7; P < 0,05) соответственно. Полученные данные свидетельствуют о способности ДОТК увеличивать выходящий калиевый ток в ГМК аорты контрольных крыс и крыс с сахарным диабетом, нормализуя тем самым их вазодилаторный потенциал.

Ключевые слова: сосудистые осложнения сахарного диабета, гладкомышечные клетки, K⁺-каналы, желчные кислоты

**К. І. Клименко, Т. В. Новохацька, В. І. Поляков, О. І. Жуковський,
В. В. Бондарь, А. І. Соловійов**

Вплив діізопропілфосфат-олігоетиленгліколя таурохолевої кислоти на вихідні калієві струми в міоцитах аорти щурів із експериментальним діабетом

Метою дослідження є вивчення впливу діізопропілфосфат-олігоетиленгліколя таурохолевої кислоти (ДОТК), діючої речовини препарату Оріон, на сумарний вихідний калієвий струм у гладеньком'язових клітинах (ГМК) аорти здорових щурів і тварин із експериментальним діабетом. Дослідження було проведено із застосуванням методики індукції діабету, методики виділення ГМК аорти, а також методики patch-clamp. Сумарний вихідний K⁺-струм у ГМК аорти здорових щурів за максимальної рівня деполаризації 70 мВ складав 47,90 ± 5,38 пА/пФ (n = 6). ДОТК викликав зростання щільності струму до 57,82 ± 4,51 пА/пФ (n = 5, P < 0,05) та до 117,33 ± 5,75 пА/пФ (n = 6, P < 0,05), після аплікації 10⁻⁶ М та 10⁻⁵ М відповідно. ГМК діабетичних тварин демонстрували зниження вихідного K⁺-струму з щільністю 22,10 ± 1,61 пА/пФ (n = 8; P < 0,05) порівняно з контролем. Аплікація препарату в концентраціях 10⁻⁶ М та 10⁻⁵ М викликала зростання щільності сумарного вихідного K⁺-струму до 27,20 ± 0,99 пА/пФ (n = 6; P < 0,05) та до 29,10 ± 0,78 пА/пФ (n = 7; P < 0,05) відповідно. Отримані дані свідчать про здатність ДОТК збільшувати вихідний калієвий струм у ГМК аорти контрольних щурів та щурів із цукровим діабетом, призводячи таким чином до нормалізації вазодилаторного потенціалу.

Ключові слова: судинні ускладнення цукрового діабету, гладеньком'язові клітини, K⁺-каналы, жовчні кислоти

**K. I. Klymenko, T. V. Novokhatska, V. I. Polyakov, O. I. Zhukovsky,
V. V. Bondar, A. I. Soloviev**

The effect of taurocholic acid diisopropylphosphate-oligoethyleneglycol on outward potassium currents in aortic myocytes of rats with experimental diabetes

The aim of this study was to evaluate the effect of pharmacological drug taurocholic acid diisopropylphosphate-oligoethyleneglycol (TADO) on integral outward K⁺ currents in rat smooth muscle cells (SMCs) obtained from the controls and rats with experimental diabetes. Experimental design of the study comprised induction of diabetes, isolation of rat thoracic aorta SMCs and patch-clamp technique. Diabetes was induced in male Wistar rats (180–200 g) by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ, 65 mg/kg). Single smooth muscle cells were isolated by collagenase digestion from rat thoracic aorta obtained from all groups of animals. To study whole-cell integral outward potassium currents (voltage clamp mode) the whole-cell patch clamp technique in the amphotericin B perforated-patch configuration was used.

Integral outward K⁺ current in control rat SMCs was 47,90 ± 5,38 pA/pF (n = 6). TADO showed significant increase in this current with peak density 57,82 ± 4,51 pA/pF (n = 5, P < 0,05) and 117,33 ± 5,75 pA/pF (n = 6, P < 0,05), after application of 10⁻⁶ M and 10⁻⁵ M respectively. Whole-cell patch-clamp technique showed a reduction of integral K⁺ outward current in SMCs of diabetic rats (22,10 ± 1,61 pA/pF (n = 8; P < 0,05)) versus controls. Application of TADO led to increase of current density to 27,20 ± 0,99 pA/pF (n = 6; P < 0,05) and 29,10 ± 0,78 pA/pF (n = 7; P < 0,05) after 10⁻⁶ M and 10⁻⁵ M respectively. In conclusion, taurocholic acid diisopropylphosphate-oligoethyleneglycol possess the ability to increase integral K⁺ outward current in rats with STZ-induced diabetes and controls.

Key words: diabetic vascular complications, smooth muscle cells, K⁺-channels, bile acids

Поступила: 11.02.2014 г.

Контактное лицо: Клименко Екатерина Игоревна, младший научный сотрудник, отдел экспериментальной терапии, ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», ул. Э. Потьме, д. 14, г. Киев, 03680. Тел.: +38 0 44 456 02 88.