

Вплив активатора АТФ-чутливих калієвих каналів флокаліну на окисний метаболізм, активність NO-синтаз і оксигенацію крові

Р.Б. Струтинський, Ю.П. Коркач, В.Р. Струтинський, Р.А. Ровенець

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: ruslans@biph.kiev.ua

Досліджували вплив активації АТФ-чутливих калієвих ($K_{ATФ}$) каналів сарколемальних та мітохондріальних мембран, яку здійснювали внутрішньовенним введенням флокаліну (0, 1-1,5 мг/кг) анестезованим собакам, на активність ендотеліальної та індукцибельної NO-синтаз (iNOS), гемоксигеназну реакцію, оксигенацію крові та вільнорадикальні процеси. Показано, що відкриття $K_{ATФ}$ -каналів дозозалежно підвищувало конститутивний та, навпаки, пригнічувало індукцибельний синтез оксиду азоту (у 2,8 і 2,1 рази при дозі флокаліну 1,5 мг/кг відповідно). Активація цих каналів є потужним антигіпоксичним механізмом, оскільки значно посилювала оксигенацію плазми крові та підвищувала вміст нітрит-аніона (у 3,7 і 3,0 рази при дозі 1,0 мг/кг відповідно). Флокалін достовірно зменшував вміст продуктів гемоксигеназної реакції – заліза та білірубину з максимальним ефектом у 2,9 та 1,9 рази відповідно, що може свідчити про пригнічення активності ферменту гемоксигенази. За умов активації $K_{ATФ}$ -каналів дозозалежно пригнічувалися вільнорадикальні процеси (генерація супероксид-аніона та пероксиду водню зменшувалася у 5,3 та 7,2 рази при дозі 1,5 мг/кг відповідно та проявлялися антиоксидантні властивості (вміст дієнових кон'югатів знижувався у 6,3 рази при дозі 1,5 мг/кг), а також гальмувалися утворення пероксинітриту за рахунок зменшення генерації супероксид-аніона (вмісту сечової кислоти) і надлишкового синтезу оксиду азоту iNOS. Таким чином, активація $K_{ATФ}$ -каналів флокаліном підвищувала активність ферментів конститутивних NO-синтаз і гемоксигенази та, навпаки, зменшувала активність iNOS, пригнічувала вільнорадикальні процеси та посилювала оксигенацію плазми крові.

Ключові слова: АТФ-чутливі калієві канали; флокалін; NO-синтази; вільні радикали; гемоксигеназа.

ВСТУП

Одним із основних ендогенних механізмів захисту від гіпоксії та ішемії є активація АТФ-чутливих калієвих ($K_{ATФ}$) каналів. Їх особливістю є здатність відкриватися у відповідь на зниження внутрішньоклітинного вмісту АТФ нижче, ніж мілімолярні значення, що дає змогу вважати цей тип каналів центральним метаболічним сенсором клітини щодо її енергозабезпечення [1-3]. $K_{ATФ}$ -канали реалізують взаємозв'язок енергоресурсу серця, його електричної та скоротливої функції [4, 5]. Дійсно, вони пов'язують біоенергетичний стан клітин з їх збудливістю та мембранним потенціалом [5]. З нашої точки зору, пору-

шення енергозабезпечення серця і скоротливої функції міокарда (зокрема, за ішемії) призводить до двох типів кардіопротекторних реакцій, що реалізуються за рахунок механічних та енергетичних факторів, спрямованих на збереження його енергетичного потенціалу і функції. З одного боку, це відбувається внаслідок зменшення навантаження на пошкоджене, ішемізоване серце, з іншого – через зменшення витрат АТФ [6, 7]. Так, активація вищезгаданих каналів спричиняє зворотну гіперполяризацію, знижує потенціал спокою, зменшує тривалість потенціалу дії та частоту скорочень кардіоміоцитів, кардіодепресорні та вазодилататорні реакції [8-11]. Проте досі повністю не з'ясовано вплив активації $K_{ATФ}$ -

© Р.Б. Струтинський, Ю.П. Коркач, В.Р. Струтинський, Р.А. Ровенець

каналів на метаболічні процеси, принаймні на синтез такого важливого медіатора, як оксид азоту, зокрема, активність ендотеліальної та індукцйбельної NO-синтаз (eNOS та iNOS відповідно), гемоксигенази та генерації оксиду вуглецю, а також оксигенацію крові та утворення сечової кислоти як показника повної деградації пуринових нуклеотидів. Недостатньо вивченими за активації цих каналів залишається утворення активних форм кисню та азоту, зміни активності ферментів антиоксидантної системи.

Водночас у світовій терапевтичній практиці застосування фармакологічних активаторів цих каналів є досить незначним – діючу сполуку лікарських засобів такого типу становлять всього 4 активатори: міноксидил, діазоксид, нікорандил та пінацидил [12, 13]. Отже, створення нових ліків, механізм дії яких зумовлений активацією K_{ATP} -каналів, є актуальним напрямком сучасної фармакології. У результаті співпраці установ НАН України, Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця та Інституту органічної хімії, було синтезовано та досліджено цілу низку нових фторвмісних активаторів K_{ATP} -каналів. Одним із найбільш перспективних щодо створення лікарського засобу виявився флокалін [6, 14, 15]. Проте його специфічна активність залишається не зовсім вивченою.

Метою нашої роботи було дослідження дії флокаліну на активність iNOS і cNOS, вміст у крові стабільних метаболітів NO та її оксигенацію, утворення вільних радикалів та гемоксигеназну реакцію.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили на безпородних собаках різної статі масою від 17 до 23 кг під наркозом (хлоралоза – 0,07 г/кг та уретан – 0,7 г/кг внутрішньовенно) за умов закритої грудної клітки та збереження природного дихання. Після введення гепарину (500 од/кг) крізь стегові артерії катетеризували черевний відділ аорти для реєстрації артеріального

тиску. Для оцінки вазомоторних реакцій периферичних судин виконували аутоперфузію судин задніх кінцівок за допомогою насоса з постійним протоком та вимірювали перфузійний тиск у стеговій артерії. Результати експериментів реєстрували за допомогою полікардіографа «Mingograph-82» фірми «Siemens-Elema» (Швеція). Експерименти проводили з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних цілей (Страсбург, 1986).

У плазмі крові досліджували зміну біохімічних показників, що характеризують окисний метаболізм (пули H_2O_2 , сечової кислоти, дієнових кон'югатів – ДК), стан антиоксидантної системи (активність ключових ферментів антиоксидантного захисту супероксиддисмутази (СОД) та каталази, біосинтез NO різними шляхами (активність iNOS і cNOS), пули стабільних метаболітів NO (нітрит- та нітрат-аніонів, низько- (НМНТ) та високомолекулярних (ВМНТ) нітрозотіолів) та зміни в гемоксигеназній реакції (пули загального білірубину і заліза).

Активність NOS визначали за допомогою спектрофотометричного вимірювання одного з продуктів реакції – L-цитруліну [16, 17]. Досліджували вміст нітрит-аніона (NO_2^-) та сечової кислоти в безбілкових аліквотах плазми крові в колориметричній реакції; вміст нітрат-аніона (NO_3^-) і заліза – спектрофотометричним методом; загального білірубину, ВМНТ і НМНТ [18]; загальний білок – за методом Бредфорд. Більш детально методи описані в попередніх публікаціях [15, 19]. Для визначення вищенаведених показників протягом експерименту проводили триразовий відбір артеріальної крові – до введення флокаліну та на 20-ту та 60-ту хвилини після. Флокалін розчиняли в диметилацетаміді (на 5 мг флокаліну – 0,1 мл диметилацетаміду) та вводили в дозах 0,1 (n=7), 0,5 (n=6), 1,0 (n=5) та 1,5 мг/кг (n=4) внутрішньовенно.

Отримані результати обробляли математично за методом варіаційної статистики за

допомогою комп'ютерної програми Origin 7.0. Достовірність результатів визначали за критерієм t Стьюдента. Значення $P < 0,05$ розглядали як статистично вірогідні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виявлено, що активація $K_{ATФ}$ -каналів флокаліном (0,1-1,0 мг/кг) дозозалежно зменшувала вміст у плазмі крові пулів сечової кислоти з максимальним ефектом у 5,31 раза від вихідних значень на 60-ту хвилину після введення (рис. 1, а). Це може свідчити про пригнічення активності ксантиноксидази, яка, з одного боку, є потужним продуцентом супероксид-аніона, а з іншого – завершує повну незворотну деградацію пуринових аденін- і гуаніннуклеотидів до кінцевих продуктів: сечової кислоти та неорганічного фосфату [20].

Водночас посилення стимуляції $K_{ATФ}$ -каналів активатором призводило до чіткого дозозалежного зменшення вмісту пероксиду водню, який утворюється при дисмутації супероксид-аніона супероксиддисмутазою. Максимальне зменшення (у 7,24 раза) відбувалося при найбільшій дозі флокаліну через годину після введення (див. рис. 1, б). Аналогічні результати отримали і при вимірюванні пулів ранніх продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – ДК, найбільше зниження вмісту яких (у 6,27 раза) зафіксовано за тих же умов (див. рис. 1, в). Це свідчить про потужну антиоксидантну дію активації $K_{ATФ}$ -каналів, а також про інгібування утворення ініціаторів ПОЛ: $\cdot OH$ -радикала (при перетворенні H_2O_2 в реакціях Фентона і Хабер-Вайса за наявності заліза) та $\cdot ON$ - і $NO_2\cdot$ -радикалів, що утворюються при радикальному (на відміну від нерадикального, за якого утворюється нітрат-аніон) розпаді пероксинітриту [20]. Разом з цим активність ключових ферментів антиоксидантного захисту – СОД та каталази, не змінювалася.

Зменшення пулів NO_3^- при активації $K_{ATФ}$ -каналів, які утворюються при розпаді

пероксинітриту, може свідчити про обмеження продукції останнього, ймовірно внаслідок пригнічення генерації супероксид-радикала ксантиноксидазою. Зниження вмісту NO_3^- було дозозалежним при введенні флокаліну в дозах 0,1-1,0 мг/кг. Найбільше цей показник (у 2,21 та 2,14 раза відносно вихідних значень на 60-ту хвилину) знижувався після інфузії значних доз флокаліну: 1,0 та 1,5 мг/кг відповідно (див. рис. 1, г). Зменшення вмісту пулів нітрозотіолів також може бути наслідком зниження утворення пероксинітриту, який є потужним нітрозилуючим агентом. Вперше показано, що активація вищезгаданих каналів флокаліном призводить до достовірного дозозалежного зниження в плазмі крові вмісту пулів НМНТ та ВМНТ з максимальними ефектами у 5 та 2,88 раза порівняно з вихідними значеннями через годину після введення активатора (див. рис. 1, д, е).

Флокалін пригнічував активність гемоксигеназної реакції (тобто ферменту гемоксигеназа), про що свідчить зменшення в плазмі крові вмісту одразу двох продуктів цієї реакції – заліза та білірубину (рис. 2). Зокрема, через 60 хв після введення значних доз флокаліну (1,0 та 1,5 мг/кг) достовірно зменшувався вміст заліза у 2,39 і 2,94 раза відповідно, а також білірубину – у 1,9 раза. Гальмування гемоксигеназної активності є ще одним фактором, що стримує оксидативний стрес, оскільки зростання пулів вільного нехелатованого заліза може призводити до утворення реакційно-небезпечного гідроксильного радикала, зокрема в реакціях Фентона (при взаємодії з пероксидом водню), Хабер-Вайса (при взаємодії того ж пероксиду з супероксид-аніоном), де залізо може відігравати роль каталізатора, та в реакції Осипова (взаємодія гіпохлориту (ClO^-) з Fe^{2+}). Перша і остання реакції зазвичай відбуваються у вогнищі запалення і мають потужний ефект при патологіях. Слід також зауважити, що флокалін значно знижував генерацію H_2O_2 (див. рис. 1, б), пригнічення якої разом зі зменшенням утворення вільного заліза при

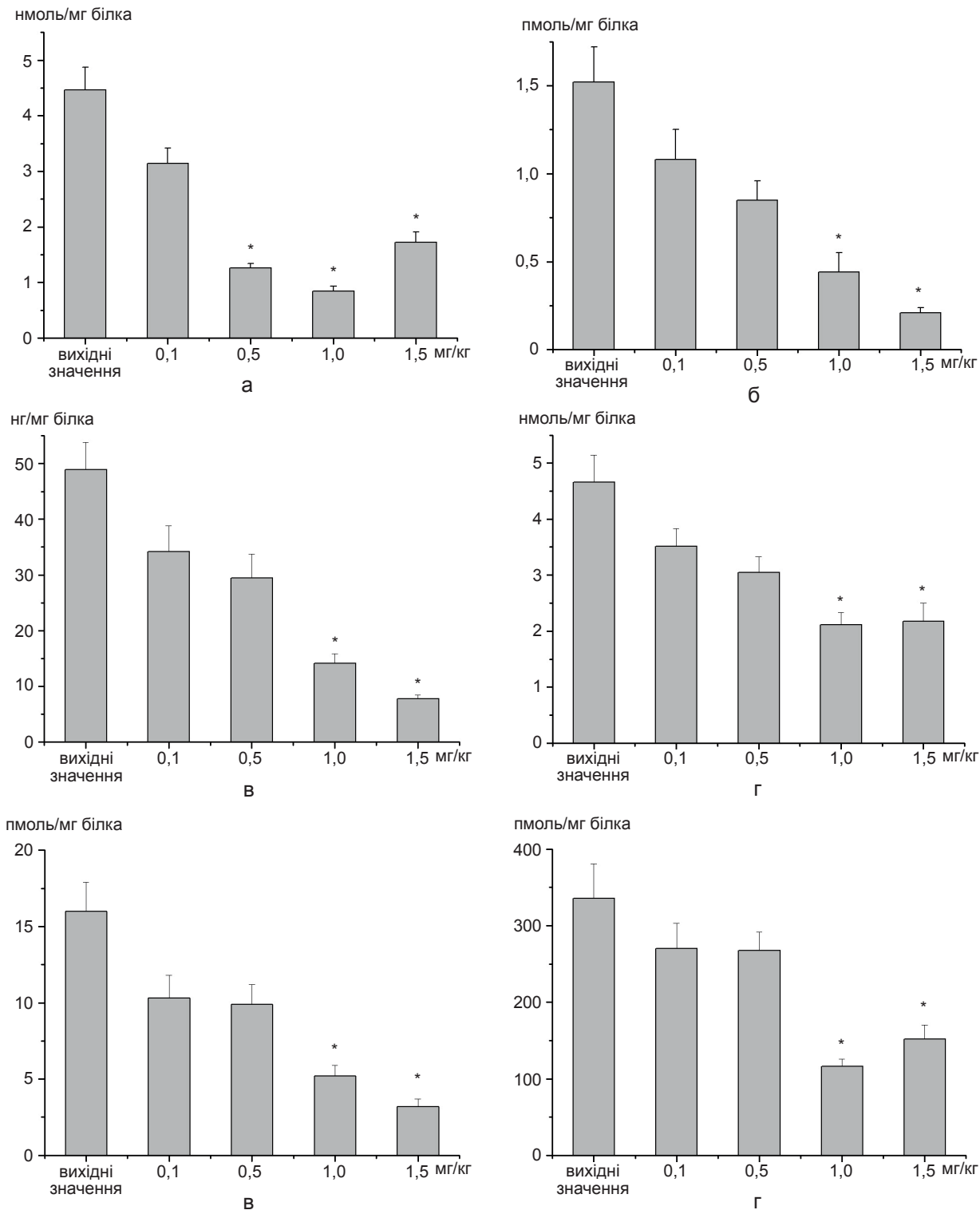


Рис. 1. Зміни вмісту сечової кислоти (а), перексиду водню (б), дієнових кон'югатів (в), нітрат-аніона (г), низько- (д) та високомолекулярних (е) нітрозотіолів у плазмі крові собак *in vivo* при активації K_{ATP} -каналів флокаліном в дозах 0,1-1,5 мг/кг; * $P < 0,05$ відносно вихідних значень

гальмуванні гемоксигеназної реакції свідчить про його попередження оксидативного стресу ще й таким чином. Зниження вмісту вільного заліза також запобігає металокаталізованому окисненню білків [21]. Отже, флокалін має потужні антиоксидантні властивості.

Відкриття K_{ATP} -каналів флокаліном стимулювало окисний метаболізм аргініну, а саме, конститутивний синтез оксиду азоту, про що свідчить збільшення пулів цитруліну (рис. 3, а) і підвищення активності ферментів cNOS (див. рис. 3, б) у плазмі крові собак. Добре відомо про протекторну дію конститу-

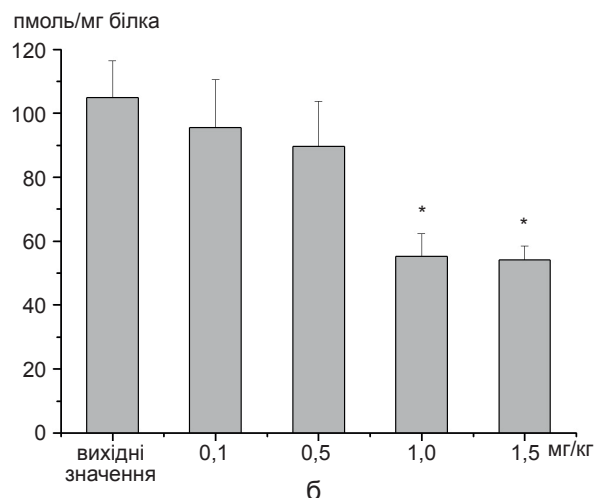
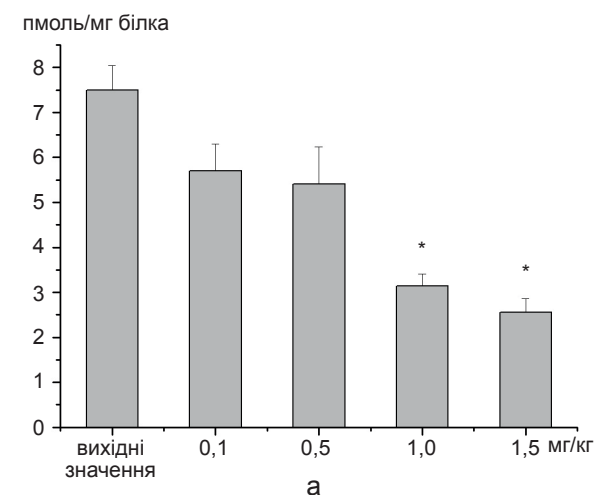


Рис. 2. Зміни вмісту пулів продуктів гемоксигеназної реакції – білірубину (а) та заліза (б) у плазмі крові собак *in vivo* при активації K_{ATP} -каналів флокаліном в дозах 0,1-1,5 мг/кг; * $P < 0,05$ відносно вихідних значень

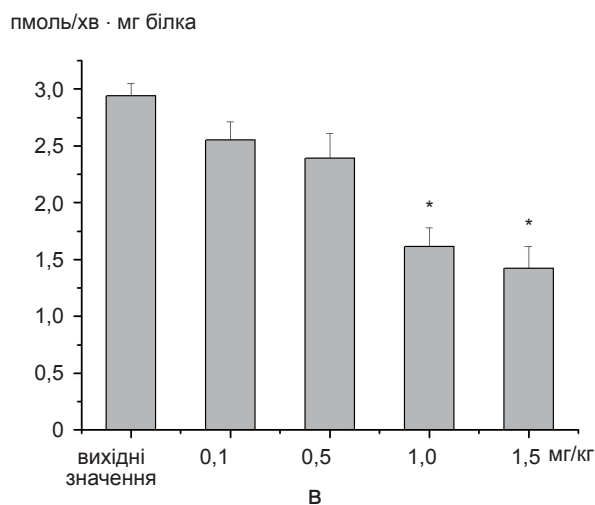
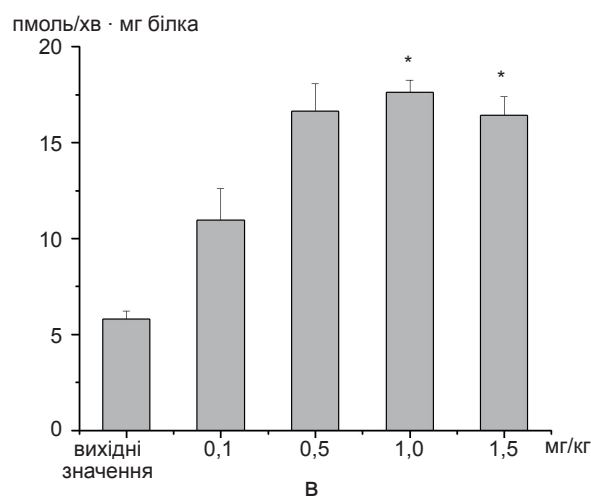
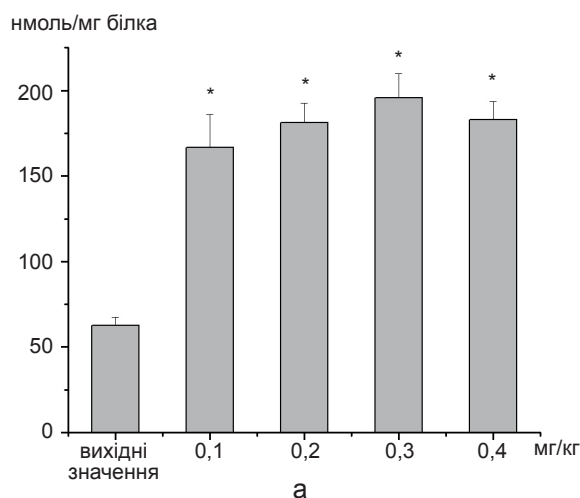


Рис. 3. Зміни вмісту пулів цитруліну (а), активності ферментів cNOS (б) та iNOS (в) у плазмі крові анестезованих собак *in vivo* при активації K_{ATP} -каналів флокаліном у дозах 0,1-1,5 мг/кг; * $P < 0,05$ відносно вихідних значень

тивно синтезованого оксиду азоту, адже він продукується в необхідних для нормального метаболізму невеликих кількостях. На відміну від них, іNOS є Ca^{2+} -незалежним ферментом, активується зазвичай лише за патологічних станів та забезпечує синтез NO протягом тривалого часу, в кількостях, що в тисячу разів перевищують продукцію NO в нормі. Аналогічне суттєве утворення NO трапляється також за активації нітритредуктази [22, 23]. Синтез оксиду азоту редуказним шляхом відбувається винятково за умов ішемії, адже ці реакції проходять без участі молекулярного кисню, а саме: нітритредуктазні системи пов'язані з білками, що містять гем – гемоглобіном, міоглобіном, цитохромоксидазою та цитохромом P-450, які можуть в дезокси-формі відновлювати нітрит-аніони до NO [22, 24]. Молібденвмісний ксантиноксидоредуктазний комплекс переносить протони на NO_2^- з утворенням азотистої кислоти у разі ацидозу в зоні ішемії та збільшує вміст NO порівняно з нормою на два порядки [22, 25]. Слід зауважити, що достовірне значне підвищення вмісту цитруліну спостерігали у всіх експериментах із активацією $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналів з мінімальним значенням зростання у 2,67 раза та максимально у 3,13 раза при дозах флокаліну 0,1 та 1,0 мг/кг відповідно на 20-ту хвилину після інфузії (див. рис. 3, а). Водночас аналогічним чином змінювалась і активність cNOS з мінімальним значенням зростання у 1,9 раза та максимально у 3,05 раза при цих дозах відповідно (див. рис. 3, б).

Флокалін також дозозалежно пригнічував активність такого ферменту Ca^{2+} -незалежного синтезу оксиду азоту, як іNOS, найбільше гальмування якого у 2,07 раза спостерігали за годину після інфузії 1,5 мг/кг активатора (див. рис. 3, в). Цілком можливо, що це відбувалося внаслідок зниження утворення супероксид-аніона (див. рис. 1, а), стимулятором якої він є. Або, навпаки, активація $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналів за фізіологічних умов збільшувала активність cNOS, тобто Ca^{2+} -залежний синтез

оксиду азоту. Припускаємо, що механізмом активації cNOS може бути також пригнічення генерації супероксиду, позаяк він є інгібітором конститутивного Ca^{2+} -залежного синтезу оксиду азоту – як експресії, так і активності ферменту. Індукція іNOS призводить до довготривалого значного підвищення вмісту NO. При цьому продуктом взаємодії NO з супероксидом (вміст якого за ішемії сягає 0,01-0,1 ммоль/л) є високотоксичний пероксинітрит (ONOO^-), який руйнує клітинні мембрани та інші внутрішньоклітинні структури внаслідок їх нітрузування чи окиснення, що сприяє

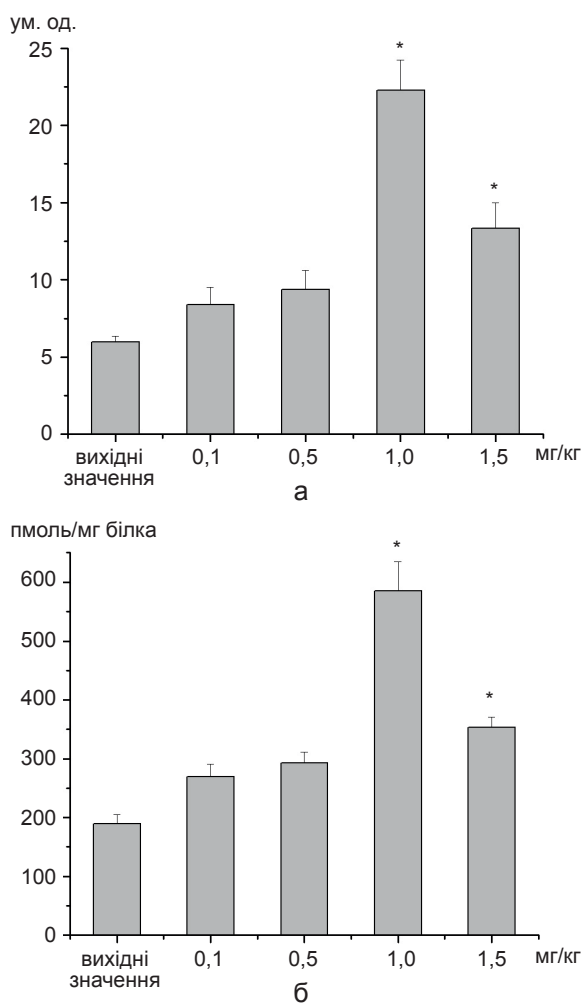


Рис. 4. Зміни значення індексу оксигенації (а) та вмісту пупів нітрит-аніона (б) у плазмі крові анестезованих собак *in vivo* при активації $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналів флокаліном в дозах 0,1-1,5 мг/кг; * $P < 0,05$ відносно вихідних значень

нітрозативному та оксидативному стресу. У разі його розкладання по радикальному шляху утворюється не менш токсичний гідроксильний радикал [26].

Потужна активація $K_{ATФ}$ -каналів при введенні флокаліну в дозах 1,0 та 1,5 мг/кг достовірно підвищувала значення індексу оксигенації з найбільшими ефектами у 3,72 та 2,23 раза відповідно через годину після введення (рис. 4, а). Це узгоджується з результатами про зростання в плазмі крові концентрації нітрит-аніона (рис. 4, б). Значення показника оксигенації свідчить про доступність кисню для генерації нітрит-аніона, адже він утворюється спонтанно при окисненні оксиду азоту лише в оксигенованих розчинах. Дозозалежне збільшення пулів нітрит-аніона при активації $K_{ATФ}$ -каналів флокаліном було в межах до 1,0 мг/кг, з найбільшим значенням зростання у 3,01 раза через годину після його введення (див. рис. 4, б).

Показано, що в більшості вимірювань дія флокаліну на біохімічні показники мала дозозалежний характер при введенні 0,1-1,0 мг/кг і подальше збільшення дози не призводило до посилення ефекту. Вірогідно, що за найвищої в експерименті дози (1,5 мг/кг) флокалін відкриває не лише АТФ-чутливі калієві, а також дещо пригнічує високопорогові кальцієві канали як за рахунок активації перших, так і прямо [27].

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що активація $K_{ATФ}$ -каналів флокаліном підвищує рівень конститутивного синтезу оксиду азоту, є потужним антигіпоксичним механізмом та значно посилює оксигенацію плазми артеріальної крові, пригнічує вільнорадикальні процеси (зменшення генерації супероксид-аніона та пероксиду водню) та проявляє антиоксидантні властивості (зниження ДК), гальмує утворення пероксинітриту (внаслідок зменшення утворення супероксид-аніона і надлишкового синтезу NO індукційною NO-синтазою) та пригнічує активність ферменту гемоксигенази.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

**Р.Б. Струтинский, Ю.П. Коркач,
В.Р. Струтинский, Р.А. Ровенец**

ВЛИЯНИЕ АКТИВАТОРА АТФ-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ ФЛОКАЛИНА НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ, АКТИВНОСТЬ NO-СИНТАЗ И ОКСИГЕНАЦИЮ КРОВИ

В опытах на анестезированных собаках изучено влияние активации АТФ-чувствительных калиевых ($K_{ATФ}$) каналов сарколемальных и митохондриальных мембран, которую осуществляли введением флокалина (0,1-1,5 мг/кг) анестезированным собакам, на активность эндотелиальной и индуцибельной NO-синтазы (iNOS), гемоксигеназную реакцию, оксигенацию крови и свободно радикальные процессы. Показано, что активация $K_{ATФ}$ -каналов дозозависимо повышала конститутивный и, наоборот, подавляла индуцибельный синтез оксида азота (в 2,8 и 2,1 раза при дозе флокалина 1,5 мг/кг соответственно). Активация этих каналов является сильным антигипоксическим механизмом, поскольку значительно усиливает оксигенацию артериальной крови и содержание нитрит-аниона (в 3,7 и 3,0 при дозе 1,0 мг/кг соответственно). Флокалин достоверно уменьшал содержание продуктов гемоксигеназной реакции – железа и билирубина с максимальным эффектом в 2,9 и 1,9 раза соответственно, что может свидетельствовать о торможении активности фермента гемоксигеназы. В условиях активации $K_{ATФ}$ -каналов дозозависимо угнетались свободнорадикальные процессы (уменьшалась генерация супероксид-аниона и перекиси водорода в 5,3 и 7,2 раза при дозе 1,5 мг/кг соответственно), а также проявлялись антиоксидантные свойства (снижалось содержание диеновых конъюгатов в 6,3 раза при дозе 1,5 мг/кг), тормозилось образование пероксинитрита (уменьшалась генерация супероксид-аниона и избыточного синтеза оксида азота iNOS). Таким образом, активация $K_{ATФ}$ -каналов флокаліном повышала активность ферментов cNOS і гемоксигенази и, наоборот, уменьшала активность iNOS, подавляла свободнорадикальные процессы и усиливала оксигенацию плазмы крови. Ключевые слова: АТФ-чувствительные калиевые каналы; флокалин; NO-синтазы; свободные радикалы; гемоксигеназа.

**R.B. Strutynskiy, Yu.P. Korkach,
V.R. Strutynskiy, R.A. Rovenets**

**INFLUENCE OF OPENER OF K_{ATP} -
CHANNELS OF FLOCALIN ON OXIDATIVE
METABOLISM, THE ACTIVITY OF NO-
SYNTASES AND BLOOD OXYGENATION**

In the experiments on the anesthetized dogs, the effects of ATP-sensitive potassium (K_{ATP}) channels activation by flocalin on the activity of endothelial and inducible NO-synthases (iNOS), heme oxygenase reaction, blood oxygenation and free radical processes were studied. Changes in biochemical parameters in arterial blood were determined after 20 and 60 minutes after intravenous administration of flocalin in doses of 0.1, 0.5, 1.0 and 1.5 mg/kg. It is shown that the opening of K_{ATP} -channels dose-dependent increases the level of protective constitutive synthesis of nitric oxide and, conversely, inhibits inducible synthesis (at 2.8 and 2.1 times at a dose of flocalin 1.5 mg/kg, respectively). The activation of the above channels is a powerful antihypoxic mechanism – greatly enhances the oxygenation of arterial blood and the content of nitrite anion (at 3.7 and 3.0 times at a dose of 1,0 mg/kg, respectively). Flocalin significantly reduced the content of the products of the heme oxygenase reaction - iron and bilirubin (with a maximum effect of 2.9 and 1.9 times respectively), which may indicate inhibition of the activity of the enzyme heme oxygenase. Activation of K_{ATP} -channels dose-dependently suppresses free radical processes (decrease in the generation of superoxide anion and hydrogen peroxide (5.3 and 7.2 times at a dose of 1.5 mg/kg, respectively) and exhibits antioxidant properties (decrease in the content of diene conjugates by 6.3 times at a dose of 1.5 mg/kg), inhibits the formation of peroxynitrite by reducing the generation of superoxide anion (uric acid content) and inducible nitric oxide. Thus, the activation of K_{ATP} -channels by flocalin increases the constitutive synthesis of NO and, conversely, reduces the inducible synthesis of NO, greatly enhances the oxygenation of arterial blood, suppresses free radical processes and the activity of heme oxygenase. Key words: ATP-sensitive potassium channels; flocalin; NO-synthases; free radicals; heme oxygenase.

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

REFERENCES

1. Nichols CG. KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism. *Nature*. 2006 Mar 23;440(7083):470-6. doi: 10.1038/nature04711.
2. Olson TM, Terzic A. Human KATP channelopathies: diseases of metabolic homeostasis. *Pflugers Arch*. 2010 Jul;460(2):295-306. doi: 10.1007/s00424-009-0771-y.
3. Zingman LV, Hodgson DM, Alekseev AE, Terzic A. Stress without distress: homeostatic role for KATP channels. *Mol Psychiatry*. 2003 Mar;8(3):253-4 doi:10.1038/sj.mp.4001323.

4. Alekseev AE, Hodgson DM, Karger AB, Park S, Zingman LV, Terzic A. ATP-sensitive K^+ channel channel/enzyme multimer: Metabolic gating in the hearts. *J Mol Cell Cardiol*. 2005 Jun;38(6):895-905. doi:10.1016/j.yjmcc.2005.02.022.
5. Zhou M, He HJ, Tanaka O, Sekiguchi M, Kawahara K, Abe H. Different localization of ATP sensitive K^+ channel subunits in rat testis. *Anat Rec (Hoboken)*. 2011 Apr;294(4):729-37. doi: 10.1002/ar.21348.
6. Strutynskiy RB, Rovenets RA, Neshcheret OP, Tumanovska LV, Boichuk TM, Dzhuran BV, Moibenko OO. Effect of medical form of flocalin on the course of myocardial reperfusion injury. *Fiziol Zh*. 2011;57(1):55-65.
7. Alekseev AE, Reyes S, Yamada S, Hodgson-Zingman DM, Sattiraju S, Zhu Z, Sierra A, Gerbin M, Coetzee WA, Goldhamer DJ, Terzic A, Zingman LV. Sarcolemmal ATP-sensitive K^+ channels control energy expenditure determining body weight. *Cell Metab*. 2010 Jan;11(1):58-69. doi: 10.1016/j.cmet.2009.11.009.
8. Strutynskiy RB. The vasodilation effects of flocalin, a fluorine-containing K (ATP) channel opener. *Fiziol Zh*. 2010;56(4):59-65.
9. Voitychuk OI, Strutynskiy RB, Yagupolskii LM, Tinker A, Moibenko OO, Shuba YM. Sarcolemmal cardiac KATP channels as a target for the cardioprotective effects of the fluorine-containing pinacidil analogue, flocalin. *Br J Pharmacol*. 2011 Feb;162(3):701-11. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.01072.x.
10. Strutynskiy RB, Rovenets RA, Strutynska NA, Neshcheret OP, Moibenko OO. The influence of activation of the ATP-sensitive potassium channels by flocalin on the function of the cardiovascular system. *Fiziol Zh*. 2013;59(1):11-6.
11. Strutynskiy RB, Moibenko OO. Modeling of K^+ ATP channel activity in normotensive and hypertensive animals. *Fiziol Zh*. 2000;46(6):54-60.
12. Burbello AT, Shabrov AB, Denisenko PP. Modern medicines. Clinico-pharmacological guide for a practitioner. Sankt Petersburg, Moscow: Neva, 2006.
13. Jahandir A, Terzic A. K_{ATP} channel therapeutics at the bedside. *J Mol Cell Cardiology*. 2005, 39: 99–112.
14. Pyvovar SM, Strutynskiy RB, Yagupolskii LM, Moibenko OO. Study of the mechanism of action of novel fluoro-containing analogs of diazoxide on the vascular tonus. *Fiziol Zh*. 2004;50(2):27-33. [Ukrainian].
15. Strutynskiy RB, Kotsiuruba AV, Neshcheret OP, Rovenets RA, Moibenko OO. The changes of metabolism in myocardium at ischemia-reperfusion and activating of the ATP-sensitive potassium channels. *Fiziol Zh*. 2012;58(1):13-26. [Ukrainian].
16. Salter M, Knowles RG, Moncada S. Widespread tissue distribution, species and changes in activity of Ca^{2+} -dependent and Ca^{2+} -independent nitric oxide synthases. *FEBS Lett*. 1991, 291(1):145-49.
17. Boyde JR, Rahmotullah M. Optimization of conditions for the colorimetric determination of citrulline, using diacetil monoxime. *Anal Biochem*. 1980,107:424-31.

18. Gerdel D, Cederbaum AJ. Inhibition of the catalytic activity of alcoholdehydrogenase by NO is associated with S-nitrosylation and the release of zinc. *Biochemistry*. 1996;35(50):16186-94.
19. Strutyns'kyi RB, Kotsiuruba AV, Neshcheret OP, Shysh AM, Rovenets' RA, Moïbenko OO. Cardioprotective effects of activation of ATP-sensitive potassium channels in experiments in vivo: influence on blood biochemical parameters following ischemia-reperfusion of the myocardium. *Fiziol Zh*. 2009;55(6):12-9.
20. Lapkin VZ, Tikhadze AK, Belenkov Yu.N. Free radical processes in normal and pathological conditions. M., 2001.
21. Mkhitaryan LS, Kuchmenko OB. Oxidative stress: mechanisms of development and role in pathology. Kiev, 2004.
22. Moïbenko OO, Sahach VF, Tkachenko MM, Korkushko OV, Bezrukov VV, Kul'chyts'kyi OK, Stefanov OV, Solov'ov AI, Mala LT, Frol'kis VV. Mechanisms of nitric oxide activity in cardiovascular system as a basis of pathogenetic therapy of related diseases. *Fiziol Zh*. 2004;50(1):11-30.
23. Dudzinski DM, Igarashi J, Greif D, Michel T. The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2006;46:235-76.
24. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, Patel RP, Reiter CD, Martyr S et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med*. 2003 Dec;9(12):1498-505.
25. Zweier JL, Samouilov A, Kuppusamy P. Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems. *Biochim Biophys Acta*. 1999 May 5;1411(2-3):250-62.
26. Riondel J, Glise D, Fernandez-Carlos T, Favier A. In vitro comparative study of cytolysis mediated by natural killer cells towards malignant cells preincubated with antioxidants. *Anticancer Res*. 1998 May-Jun;18(3A):1757-63.
27. Voitychuk OI, Strutynskyi RB, Moibenko OO, Shuba YM. Effects of fluorine-containing opener of ATP-sensitive potassium channels, pinacidil-derivative focalin, on cardiac voltage-gated sodium and calcium channels. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2012 Nov;385(11):1095-102. doi: 10.1007/s00210-012-0792-5.

Матеріал надійшов до редакції 27.12.2017