

# ВЛИЯНИЕ ГЛИБЕНКЛАМИДА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ $K_{ATP}$ -КАНАЛОВ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ У КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИНОВЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ



© И.Б. Соколова, Г.И. Лобов

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

**АКТУАЛЬНОСТЬ.** В терапии сахарного диабета (СД) для стойкого снижения уровня глюкозы в крови широко применялся глибенкламид — блокатор  $K_{ATP}$ -каналов. Однако его воздействие на мозговую циркуляцию исследовано очень мало. Понижение функциональной активности  $K_{ATP}$ -каналов вследствие их блокирования глибенкламидом на фоне развившейся эндотелиальной дисфункции может привести к нарушению мозговой циркуляции (особенно на микроциркуляторном уровне) и способствовать ремоделированию сосудистой сети.

**ЦЕЛЬ.** Оценить влияние глибенкламида на реактивность церебральных артерий у крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом (СТЗ-СД).

**ЗАДАЧИ.** 1. Изучить изменение функционального состояния  $K_{ATP}$ -каналов пиальных артерий при СТЗ-СД. 2. Оценить влияние глибенкламида на участие  $K_{ATP}$ -каналов в формировании базального тонуса и эндотелий-зависимой дилатации пиальных артерий.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Работа проведена на 54 крысах-самцах линии Sprague Dawley. СТЗ-СД был смоделирован посредством содержания животных на высокожировой диете и введении стрептозотоцина (35 мг/кг). С помощью установки для прижизненного изучения реактивности пиальных сосудов через 3 мес с начала эксперимента измеряли диаметр артерий при орошении поверхности мозга растворами Кребса-Хенселейта, ацетилхолина, глибенкламида, пинацидила и ацетилхолина на фоне действия глибенкламида или пинацидила.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** При моделировании СТЗ-СД крысы развили толерантность к глюкозе, инсулинорезистентность (ИР); относительно контрольных животных масса тела была больше в 1,3 раза, процентное содержание висцерального жира — в 3 раза, уровень глюкозы в крови — в 3,2 раза. Показали, что при СТЗ-СД число констрикций пиальных артерий под действием глибенкламида уменьшилось в 1,3–1,9 раза по сравнению с интактными крысами. Глибенкламид не блокировал эндотелий-зависимую дилатацию.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** У крыс со СТЗ-СД  $K_{ATP}$ -каналы принимают участие в формировании базального тонуса пиальных артерий, но вклад этих каналов снижен в среднем в 1,5 раза по сравнению со здоровыми крысами.

Применение глибенкламида при СТЗ-СД не влияет на эндотелий-зависимую дилатацию церебральных артерий.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** сахарный диабет 2 типа; стрептозотоцин; церебральная циркуляция; глибенкламид;  $K_{ATP}$ -каналы; эндотелий-зависимая дилатация.

## THE EFFECT OF GLIBENCLAMIDE ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF $K_{ATP}$ CHANNELS OF CEREBRAL ARTERIES IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN DIABETES MELLITUS

© Irina B. Sokolova, Gennadii I. Lobov

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

**BACKGROUND:** In the treatment of diabetes mellitus (DM) for a persistent reduction in blood glucose levels it was widely used glibenclamide — a  $K_{ATP}$  channels blocker. However, its effects on cerebral circulation have been studied very little. A decrease in the functional activity of  $K_{ATP}$  channels due to their blocking by glibenclamide against the background of developed endothelial dysfunction may lead to impaired cerebral circulation (especially at the microcirculatory level) and promote remodeling of the vascular network.

**AIM:** To evaluate the effect of glibenclamide on the reactivity of cerebral arteries in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus (STZ-T2DM).

**TASKS:** 1. To study changes in the functional state of  $K_{ATP}$  channels of pial arteries in STZ-T2DM. 2. To evaluate the effect of glibenclamide on the participation of  $K_{ATP}$  channels in the formation of basal tone and endothelium-dependent dilatation of pial arteries.

**MATERIALS AND METHODS:** The study was performed on 54 male Sprague Dawley rats. Streptozotocin-induced diabetes mellitus (STZ-T2DM) was modeled by keeping animals on a high-fat diet and administering streptozotocin (35 mg/kg). Using an installation for intravital study of pial vessels reactivity, 3 months from the beginning of the experiment, the diameter of the arteries was measured when the brain surface was irrigated with Krebs-Henseleit solution, acetylcholine, glibenclamide, pinacidil and acetylcholine against the background of the action of glibenclamide or pinacidil.

**RESULTS:** With modeling STZ-T2DM, rats developed glucose tolerance and insulin resistance. Compared to control animals, body weight was 1,3 times higher, the percentage of visceral fat was 3 times higher, and the blood glucose level was 3,2 times higher. It was shown that in STZ-T2DM the number of pial artery constrictions under the action of glibenclamide decreased by 1,3 — 1,9 times compared to intact rats. Glibenclamide did not block endothelium-dependent dilation.

**CONCLUSION:** In rats with streptozotocin diabetes,  $K_{ATP}$  channels take part in the formation of the basal tone of the pial arteries, but the contribution of these channels is reduced on average by 1.5 times compared to healthy rats. The use of glibenclamide in STZ-T2DM does not affect endothelium-dependent dilatation of cerebral arteries.

**KEYWORDS:** type 2 diabetes mellitus; streptozotocin; cerebral circulation; glibenclamide;  $K_{ATP}$  channels; endothelium-dependent dilation.

Для стойкого снижения уровня глюкозы в крови больных сахарным диабетом 2 типа (СД2) широко применяют производные сульфамочевины, в том числе глибенкламид [1, 2]. Механизм действия глибенкламида заключается в следующем. АТФ-чувствительные калиевые каналы ( $K_{ATP}$ -каналы)  $\beta$ -клеток поджелудочной железы — это гетерооктамеры, состоящие из четырех субъединиц Kir6.2 и четырех субъединиц SUR1. Посредством сульфамочевинной и бензамидной групп глибенкламид связывается с рецептором SUR1 и дезактивирует  $K_{ATP}$ -канал. Ингибирование  $K_{ATP}$ -каналов приводит к деполаризации клеточной мембраны, входу  $Ca^{2+}$  в  $\beta$ -клетки через открывшиеся кальциевые каналы и высвобождению  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо в эндоплазматическом ретикулуме и митохондриях. Повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле  $\beta$ -клеток активирует выход инсулина в кровь. Однако глибенкламид является блокатором  $K_{ATP}$ -каналов в клетках всего организма, в том числе и в сердечно-сосудистой системе. При СД2 высок риск развития ишемических и лакунарных инсультов головного мозга и церебральной ангиопатии. Основной причиной ухудшения кровообращения при метаболическом синдроме (МС) и СД2 считается эндотелиальная дисфункция — дисбаланс в выработке вазодилататоров/вазоконстрикторов, активация процессов тромбообразования и воспаления [3]. Ранее показано, что при развитии МС и СД2 в стенках церебральных сосудов может откладываться  $\beta$ -амилоидный белок, вызывая повреждение эндотелиальных клеток и, как следствие, уменьшение выработки NO и снижение чувствительности артерий к ацетилхолину [4]. К эндотелиальной дисфункции также приводят инсулинорезистентность (ИР) и хроническая гипергликемия. Инсулин в высокой концентрации вызывает пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток, пролиферацию фибробластов, активацию системы свертывания крови, снижение активности фибринолиза [5]. При хронической гипергликемии глюкоза вступает во взаимодействие с белками и липидами крови с образованием продуктов гликирования [6]. Связывание конечных продуктов гликирования с базальной мембраной сосудистой стенки приводит к ее утолщению, снижению эластичности, развитию воспалительной реакции и повреждению эндотелиальных клеток [7, 8]. Но патологические изменения реактивности церебральных сосудов могут происходить и из-за сбоя в работе ионных каналов эндотелиальных и гладкомышечных клеток (ГМК) [9, 10]. Посредством  $K_{ATP}$ -каналов в значительной мере регулируется сосудистый тонус [11]. В литературе данных о влиянии СД2 на функционирование  $K_{ATP}$ -каналов мозговых артерий представлено мало, и эти данные очень противоречивы. Одни авторы утверждают, что  $K_{ATP}$ -каналы не участвуют в формировании сосудистого тонуса при

СД2 [9], другие — что блокирование  $K_{ATP}$ -каналов негативно сказывается на постинсультном состоянии нейронов у больных СД2 [10]. Вопрос о влиянии глибенкламида на мозговую циркуляцию у больных СД2 в настоящее время остается открытым.

## ЦЕЛЬ

Оценить влияние глибенкламида на реактивность церебральных артерий у крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом (СТЗ-СД).

В рамках представленного исследования были поставлены следующие экспериментальные задачи: 1. Изучить изменение функционального состояния  $K_{ATP}$ -каналов пиальных артерий при СТЗ-СД. 2. Оценить влияние глибенкламида на участие  $K_{ATP}$ -каналов в формировании базального тонуса и эндотелий-зависимой дилатации пиальных артерий.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена на животных из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем» (Санкт-Петербург). Исследования проводили в соответствии с этическими стандартами, утвержденными правовыми актами РФ, принципами Базельской декларации и требованиями Комиссии по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол №04/12 от 12.04.2022 г.). Крыс содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище по 6 особей в клетках Т4 в условиях искусственного освещения (цикл: 12 часов свет/12 часов темнота).

## Дизайн

В экспериментальной работе были использованы линейные крысы — самцы Sprague Dawley, возраст которых в начале работы составлял 3 месяца, вес 400–420 г, 54 особи. Изначально были сформированы 2 пула животных: контрольные животные (содержались на стандартном комбикорме для лабораторных животных (Тосненский комбикормовый завод, Россия)) (Группа 1, 18 особей) и крысы, которые в течение двух месяцев получали высокожировую диету (ВЖД). ВЖД включала стандартный комбикорм (370 г/кг) и добавки в виде жира свиного (313 г/кг), казеина (253 г/кг), витаминно-минеральной смеси (61 г/кг): 58% жира, 25% белка, 17% углеводов [12, 13]. Перед использованием все компоненты корма тщательно перемалывались, и из смеси формировались гранулы, подобные стандартному комбикорму. Через 2 месяца крысам, у которых моделировали СТЗ-СД

(Группа 3, 18 особей), был введен внутривенно панкреотоксичный препарат стрептозотоцин в концентрации 35 мг/кг (Sigma-Aldrich, USA). Часть животных, находящихся на ВЖД, без введения стрептозотоцина являлась второй контрольной группой (Группа 2, 18 особей). Еще 1 месяц животные из групп 2 и 3 получали ВЖД. Графики изменения веса крыс из экспериментальных групп и уровня глюкозы в крови представлены на рис. 1.

Затем животные из всех экспериментальных групп были протестированы на толерантность к глюкозе с помощью глюкозо-толерантного теста (ГТТ) и на инсулинорезистентность с помощью инсулин-толерантного теста (ИТТ) (по 6 особей из каждой группы) [14] (рис. 2).

ГТТ проводили после 16-часового голодания при свободном доступе к воде. В начале эксперимента измеряли уровень глюкозы в крови из хвостовой вены с помощью глюкометра Акку-Чек Актив («Рош Диабетс Кеа ГМБХ», Германия). Затем внутривенно вводили углеводную нагрузку из расчета 2 г глюкозы на килограмм веса. Далее измерения уровня глюкозы в крови проводили через 30, 60 и 120 мин. ИТТ проводили после 4-часового голодания крыс. После фонового измерения уровня глюкозы в крови животным подкожно вводили инсулин (ООО «Завод Медсинтез», Россия) в дозе 0,75 Ед/кг. Уровень глюкозы в крови измеряли через 15, 30, 60 и 120 мин.

После эвтаназии у животных тщательно изымали висцеральный жир и определяли его вес. Висцеральная жировая ткань у грызунов включает в себя мезентериальную (располагается по ходу кишечника), забрюшинную (располагается за почками) и эпидидимальную (располагается вдоль семенников) жировую ткань [15].

Удельный вес висцерального жира в группах 1, 2 и 3 составлял  $2,1 \pm 0,3\%$ ,  $4,5 \pm 0,5\%$  ( $*p \leq 0,05$  относительно группы 1) и  $6,1 \pm 0,3\%$  ( $***p \leq 0,0001$  относительно группы 1) соответственно.

Эксперименты проводились на наркотизированных (золетил (Virbac, Франция) (20 мг/кг) внутривенно) животных; для эвтаназии использовали повышенную дозу наркоза.

#### Метод прижизненного микроскопирования

Для проведения прижизненного исследования реакций пиальных артерий в теменной области черепа животного на площади примерно  $1 \text{ см}^2$  удаляли кость и твердую мозговую оболочку. Во время эксперимента поверхность мозга непрерывно орошали раствором Кребса-Хенселейта (рН 7,4, температура  $38^\circ \text{C}$ ) и контролировали среднее АД [16]. Прямое измерение среднего АД производили через канюлю в бедренной артерии. Среднее АД составляло  $125 \pm 2 \text{ мм рт.ст.}$ ,  $131 \pm 3 \text{ мм рт.ст.}$  и  $135 \pm 5 \text{ мм рт.ст.}$  у животных

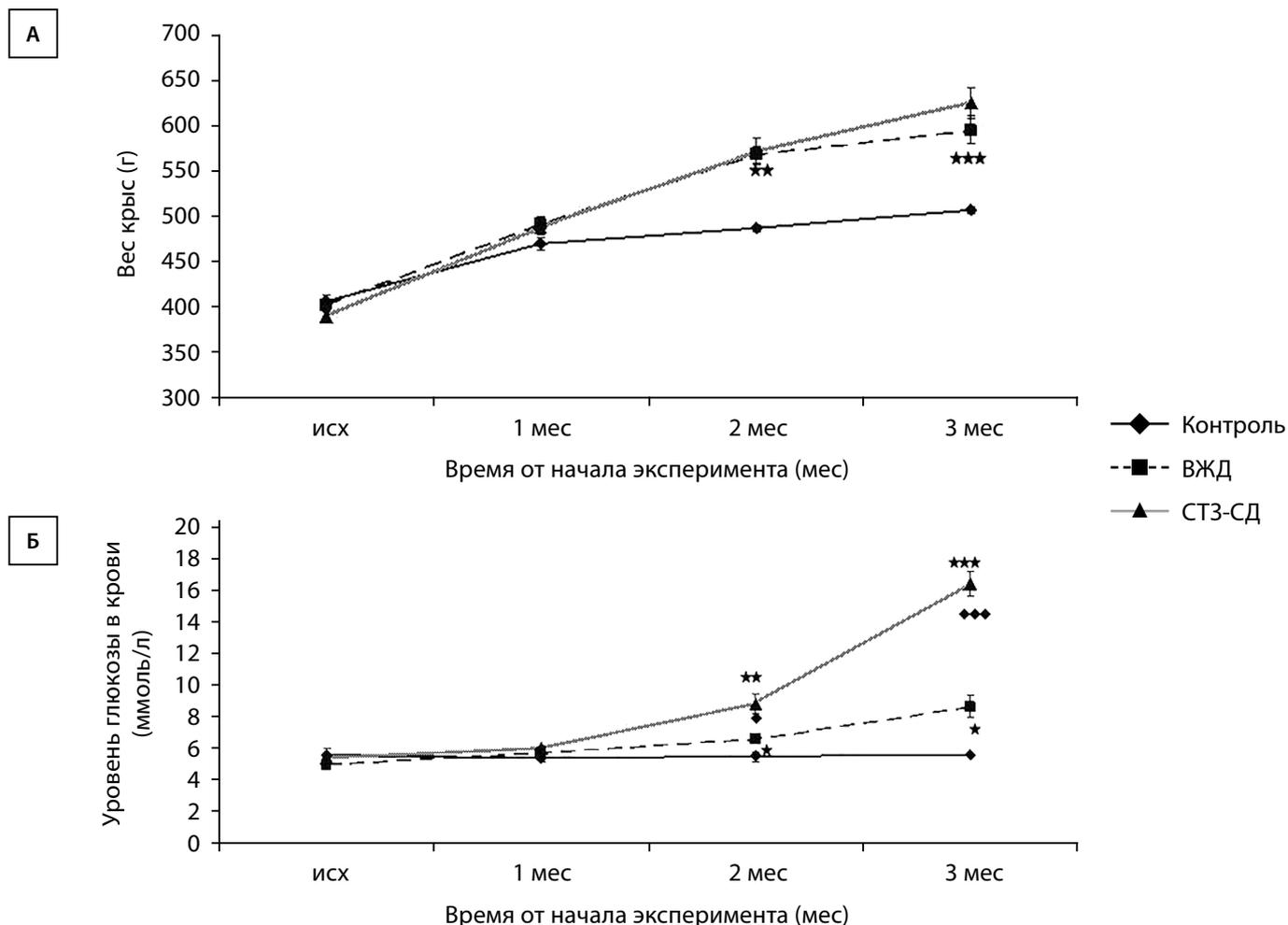
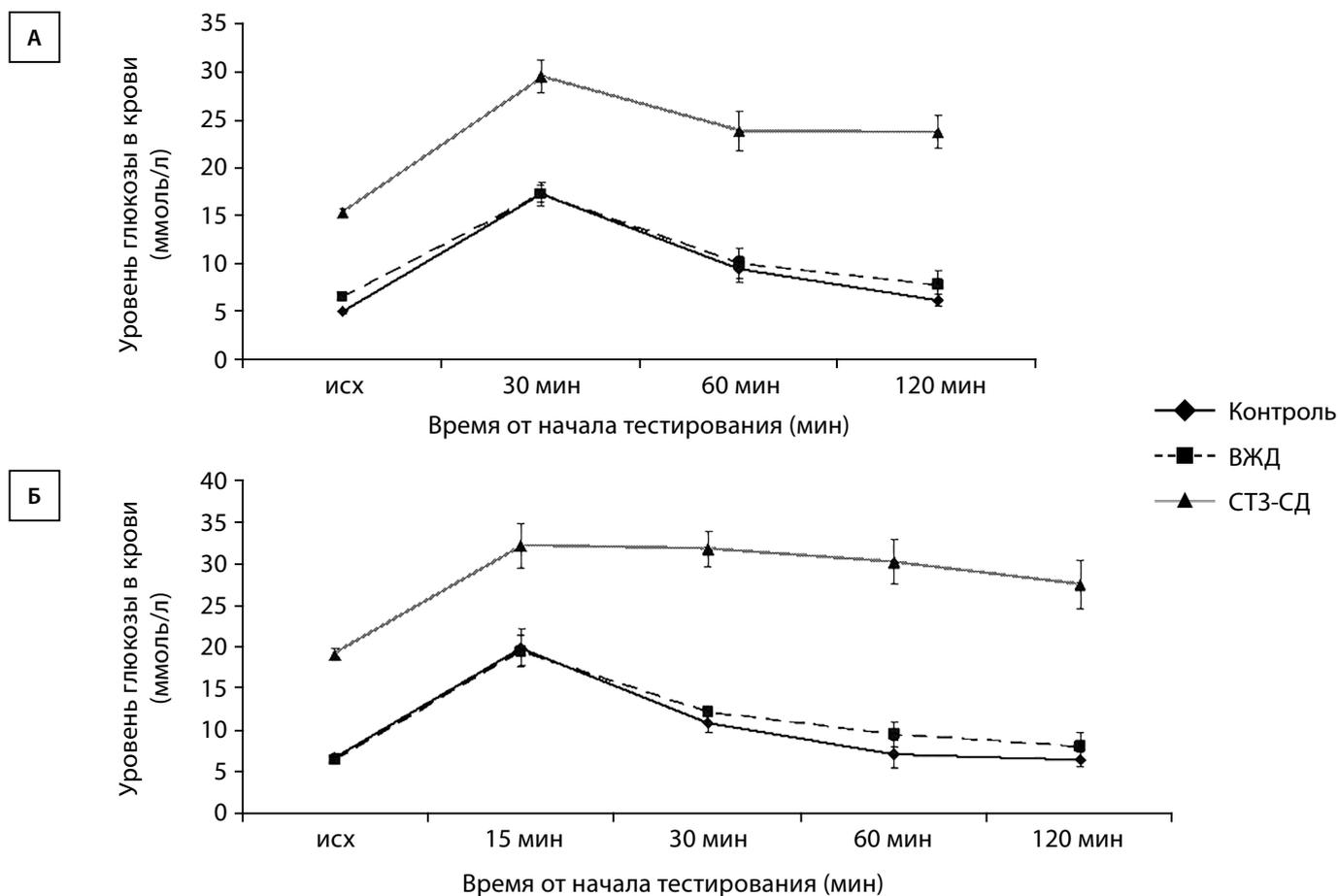


Рисунок 1. Динамика изменения веса экспериментальных крыс и уровня глюкозы в крови.

**Примечание.** ВЖД — высокожировая диета; СТЗ-СД — стрептозотоциновый сахарный диабет. По горизонтали — время от начала эксперимента (месяцы), по вертикали — а) вес крыс (г); б) уровень глюкозы в крови (ммоль/л). \* — изменения значимы по сравнению с контрольными животными; ° — изменения значимы между группами ВЖД и СТЗ-СД. Данные представлены в виде среднего арифметического ± ошибка среднего ( $^{*}p < 0,05$ ,  $^{**}p < 0,01$ ,  $^{***}p < 0,001$  непарный t-критерий).



**Рисунок 2.** Графики тестирования экспериментальных крыс на толерантность к глюкозе с помощью глюкозо-толерантного теста (ГТТ) и на инсулинорезистентность с помощью инсулин-толерантного теста (ИТТ).

**Примечание.** ВЖД — высокожировая диета; СТЗ-СД — стрептозоточиновый сахарный диабет. По горизонтали — время от начала тестирования (мин), по вертикали — уровень глюкозы в крови (ммоль/л). Данные представлены в виде среднего арифметического ± ошибка среднего.

из 1, 2 и 3 групп соответственно. Температуру тела крысы поддерживали на уровне 38 °С. Экспериментальная установка состояла из стереоскопического микроскопа MC-2ZOOM («Микромед», Россия), цветной камеры — видеоокуляра для микроскопа DCM-510 (Scopetek, Китай) и персонального компьютера. Диаметры сосудов измеряли на статических изображениях, используя программу «Photo M», разработанную для цитофотометрии (автор А. Черниговский, [http://www.t\\_lambda.chat.ru](http://www.t_lambda.chat.ru)). У каждой крысы измерения проводились не менее чем на 50 артериях, которые были разбиты на группы: 60–80 мкм, 40–60 мкм, 20–40 мкм, менее 20 мкм. Исходным значением считали диаметр сосуда без воздействия (орошение раствором Кребса-Хенселейта: в мМ: NaCl 120,4; KCl 5,9; NaHCO<sub>3</sub> 15,5; MgCl<sub>2</sub> 1,2; CaCl<sub>2</sub> 2,5; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2; глюкоза 11,5; pH 7,4), аэрированного карбогеном). В качестве вазореактивных препаратов использовали раствор ацетилхолина (ACh) (10<sup>-7</sup>М/л, 8 мин) (Sigma-Aldrich, USA) в растворе Кребса-Хенселейта. После 20-минутной отмывки поверхности мозга раствором Кребса-Хенселейта и повторной фиксации диаметров при этом воздействии на поверхность мозга наносили раствор блокатора K<sub>АТО</sub>-каналов глибенкламида (Glybenclamide, Sigma-Aldrich, 10 мкМ, 10 мин) в диметилсульфоксиде (DMSO, Sigma-Aldrich, США) (GB) или раствор активатора K<sub>АТО</sub>-каналов пинацидила (Pinacidil monohydrate, Sigma-Aldrich, 200 мкМ, в растворе DMSO, 5 мин) (PI). Концентрация растворителя DMSO составляла 0,1% и не влияла на реактивность исследуемых

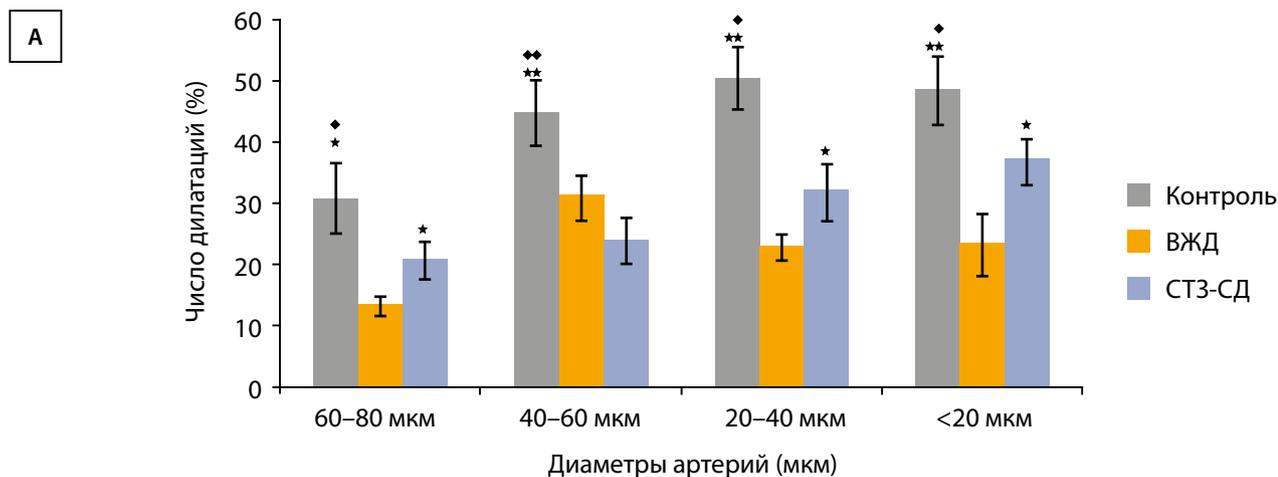
сосудов [16]. На последнем этапе эксперимента на поверхность мозга наносили раствор ACh в глибенкламиде или пинацидиле. В статистическую обработку были отобраны сосуды, у которых изменение диаметра превышало 5% от исходного [16].

#### Статистический анализ данных

Математический анализ данных проведен с помощью статистических программ Microsoft Excel 2003 и InStat 3.02 («GraphPad Software Inc.», США). Данные представлены в виде среднего арифметического значения и его ошибки. Сравнение двух групп при нормальном распределении (проверка с помощью критерия Колмогорова-Смирнова) проводили с использованием непарного t-теста. Достоверным уровнем отличий считали вероятность не менее 95% (p < 0,05).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты микроциркуляторного исследования показали, что под воздействием блокатора K<sub>АТО</sub>-каналов глибенкламида (GB) у крыс из группы СТЗ-СД число сужившихся пиальных артерий уменьшилось в 1,3–1,9 раза относительно контрольных животных (Группа 1). При этом с контрольной группой крыс, находящейся на ВЖД (Группа 2), статистически значимой разницы по числу констрикций не выявлено (рис. 3А), кроме мельчайших артерий диаметром менее 20 мкм.



**Рисунок 3.** Оригинальные изображения микрососудистой сети пиальной оболочки коры головного мозга экспериментальных животных.

**Примечание.** ВЖД — высокожировая диета; СТЗ-СД — стрептозотоциновый сахарный диабет.

А. Число пиальных артерий, ответивших констрикцией на воздействие глибенкламида. По горизонтали — группы сосудов, по вертикали — число сосудов, сузившихся в ответ на воздействие GB (% от общего числа исследованных сосудов). Данные представлены в виде среднего арифметического ± ошибка среднего. \* — изменения значимы по сравнению с числом констрикций у животных ВЖД; ° — изменения значимы по сравнению с числом констрикций у крыс СТЗ-СД (\*, °  $p < 0,05$ , \*\*, °  $p < 0,01$ , непарный t-тест).

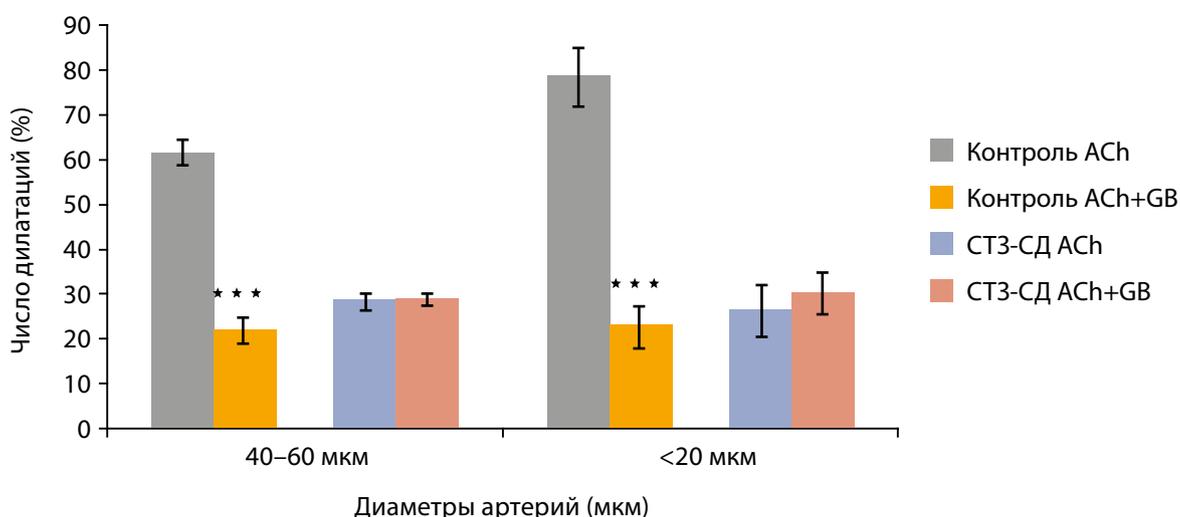
Б. Микрофотографии пиальных сосудов крыс экспериментальных животных,  $\times 140$ : исходное состояние (орошение поверхности мозга раствором Кребса-Хенселейта) — реакция на орошение поверхности мозга раствором глибенкламида (10 мкМ, 10 мин).

На рис. 4 на примере крупных (диаметром 40–60 мкм) и мелких (диаметром менее 20 мкм) пиальных артерий представлено влияние глибенкламида на эндотелий-зависимую дилатацию. У контрольных животных из группы 1 при применении АСh на фоне действия GB (АСh + GB) число расширившихся артерий уменьшилось в 2,2–3,5 раза по сравнению с воздействием чистого АСh. У животных из группы 2 (ВЖД) не выявлено значимой разницы в числе дилатаций на АСh и АСh + GB (данные не показаны). В группе СТЗ-СД GB также не влиял на АСh-опосредованную дилатацию пиальных артерий.

На рис. 5 представлено сравнение числа расширившихся пиальных артерий на воздействие пи-

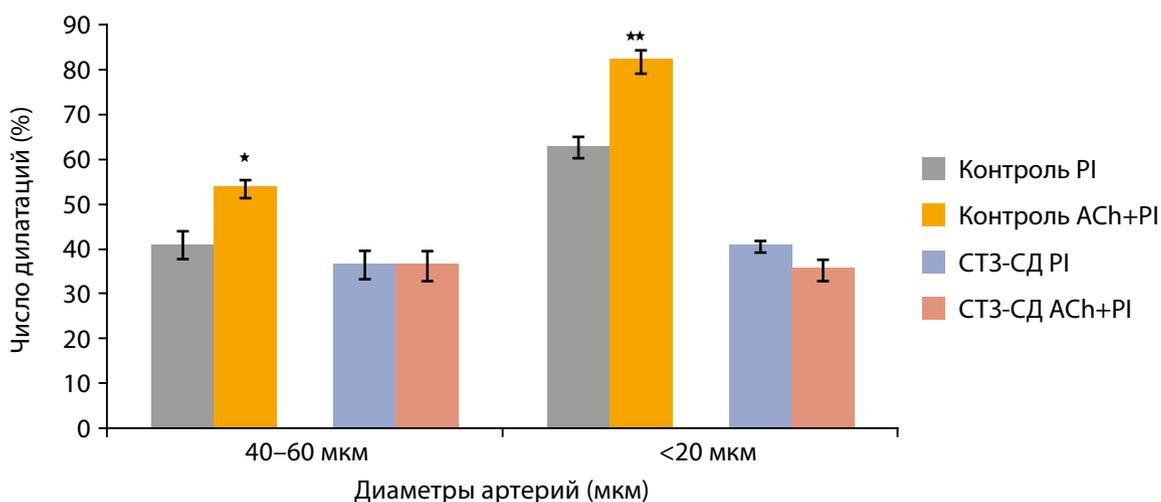
нацидила (PI) и пинацидила на фоне ацетилхолина (PI+АСh).

Результаты показали, что в контрольной группе 1 применение АСh на фоне действия PI привело к увеличению числа расширившихся артерий по сравнению с чистым PI (рис. 5). В контрольной группе 2 (ВЖД) не выявили статистически значимой разницы по числу дилатаций при воздействии на поверхность мозга растворами АСh, PI и PI+АСh (данные не показаны). В группе СТЗ-СД число сузившихся артерий под воздействием GB в 1,3–1,5 раза меньше, чем расширившихся под воздействием PI (кроме мельчайших артерий диаметром менее 20 мкм) (рис. 3А и 5). АСh-опосредованная дилатация на фоне действия PI не выявлена (рис. 5).



**Рисунок 4.** Сравнение числа пиальных артерий, ответивших дилатацией на воздействие ацетилхолина и ацетилхолина при блокировании  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламидом на примере пиальных артерий диаметром 40–60 мкм и менее 20 мкм.

**Примечание.** ВЖД — высокожировая диета; СТЗ-СД — стрептозотоциновый сахарный диабет. По горизонтали — группы сосудов, по вертикали — число сосудов, расширившихся в ответ на воздействие АСh и АСh + GB (% от общего числа исследованных сосудов). Данные представлены в виде среднего арифметического ± ошибка среднего. \* — изменения значимы по сравнению с числом дилатаций на АСh (\*\*\*)  $p < 0,001$ , непарный t-тест).



**Рисунок 5.** Сравнение числа пиальных артерий, ответивших дилатацией на воздействие пинацидила и ацетилхолина при активации  $K_{ATP}$ -каналов пинацидиллом на примере пиальных артерий диаметром 40–60 мкм и менее 20 мкм.

**Примечание.** ВЖД — высокожировая диета; СТЗ-СД — стрептозотоциновый сахарный диабет. По горизонтали — группы сосудов, по вертикали — число сосудов, расширившихся в ответ на воздействие АСh и PI + АСh (% от общего числа исследованных сосудов). Данные представлены в виде среднего арифметического ± ошибка среднего. \* — изменения значимы по сравнению с числом дилатаций на АСh (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , непарный t-тест).

## ОБСУЖДЕНИЕ

$K_{\text{АТФ}}$ -каналы являются определяющим звеном в поддержании тонуса церебральных артерий посредством регуляции внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  [10, 11]. Результаты нашей работы показали, что после формирования у крыс СТЗ-СД под воздействием глибенкламида сузилось 20–40% пиальных артерий, что в 1,3–1,9 раза меньше, чем у крыс из контрольной группы 1 (рис. 3А). С контрольной группой 2 (ВЖД) разницы в реакции на GB не выявлено, за исключением артерий с исходным диаметром менее 20 мкм. Воздействие GB может быть снижено из-за дезактивации  $K_{\text{АТР}}$ -каналов мозговых артерий или понижения их плотности в сосудистой стенке. Блокирование  $K_{\text{АТР}}$ -каналов при СД2 может происходить по нескольким причинам. Гипергликемия приводит к повышению концентрации глюкозы в цитозоле эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Это, в свою очередь, вызывает повышение уровня АТФ, которая присоединяется к Kir6.1 единице и тем самым закрывает  $K_{\text{АТР}}$ -канал [17]. Но мы видим уменьшение числа констрикций пиальных артерий на воздействие GB и в группе животных, которые потребляли только высокожировую корм без введения им стрептозотоцина. Следовательно, можно предположить, что доминирующую роль в блокировании  $K_{\text{АТР}}$ -каналов пиальных артерий играет не уровень глюкозы в крови, а окислительный стресс. Как при ВЖД, так и при СД2, увеличивается количество субстратов окисления (глюкозы и липидов) и уменьшается образование и понижается активность антиоксидантных систем, таких как глутатион, супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионовая пероксидаза [18]. В результате реакции между супероксид-анионом и оксидом азота образуется пероксинитрит ( $\text{ONOO}^-$ ) [19], который, с одной стороны, активирует  $K_{\text{АТФ}}$ -каналы и кальций-чувствительные калиевые каналы большой проводимости. Далее происходит гиперполяризация клеточной мембраны, расслабление ГМК и увеличение диаметра артерий. С другой стороны,  $\text{ONOO}^-$  вступает в реакцию с сульфгидрильными группами в составе молекул  $K_{\text{АТФ}}$ -каналов, тем самым понижая их функциональную активность [20], что приводит к констрикторной реакции артериальных сосудов. Вероятно, плотность  $K_{\text{АТФ}}$ -каналов в сосудистой стенке церебральных артерий при развитии СТЗ-СД уменьшается, но функционирующие  $K_{\text{АТФ}}$ -каналы есть и они принимают участие в поддержании базального тонуса мозговых сосудов. По нашим данным, у животных из группы СТЗ-СД глибенкламид блокировал меньшее число  $K_{\text{АТФ}}$ -каналов, чем активировал PI (в 1,5–1,3 раза, за исключением артерий диаметром менее 20 мкм) (рис. 3А, рис. 5). Следовательно, помимо функционирующих, имеются заблокированные, но не поврежденные  $K_{\text{АТФ}}$ -каналы, которые потенциально могут быть активированы и задействованы в регуляции сосудистой реактивности.

Открытие  $K_{\text{АТФ}}$ -каналов ГМК с выходом ионов  $\text{K}^+$  из клетки — одно из составляющих в формировании эндотелий-зависимой дилататорной реакции пиальных артерий. У контрольных животных GB блокировал ACh-зависимую дилатацию на 45–71% в зависимости от диаметра артерий (рис. 4). На фоне действия актива-

тора  $K_{\text{АТФ}}$ -каналов пинацидила число дилатаций на ACh было статистически значимо выше, чем на чистый PI (рис. 5). Следовательно, расслабление ГМК может происходить за счет активации других сигнальных путей, например посредством  $\text{Ca}^{2+}$  — активируемых калиевых каналов, потенциал-зависимых калиевых каналов и т.д. [21]. У контрольных крыс, находящихся на ВЖД, не было выявлено статистически значимой разницы по числу дилатаций пиальных артерий на воздействие чистого ACh и ACh на фоне блокады  $K_{\text{АТФ}}$ -каналов (рис. 4) или между PI и PI+ ACh (рис. 5). Вероятно, у животных на ВЖД для поддержания базального сосудистого тонуса задействованы все функционирующие  $K_{\text{АТФ}}$ -каналы. В формировании эндотелий-зависимой дилатации церебральных артерий эти каналы у данной группы животных практически не принимают участия. В литературе представлены данные, что при употреблении больших количеств калорийной пищи в сосудистой стенке мозговых сосудов откладывается  $\beta$ -амилоидный пептид и развивается  $\beta$ -амилоидная ангиопатия [22, 23].  $\beta$ -амилоид нарушает функционирование митохондрий, вызывает деградацию клеточных мембран, нарушает транспорт ионов [24]. В более поздних работах было установлено, что  $\beta$ -амилоидная ангиопатия затрагивает и  $K_{\text{АТФ}}$ -каналы [25], понижая их функциональную активность, хотя данный механизм до конца не изучен [26].

Применение глибенкламида не повлияло на ACh-опосредованное расширение пиальных артерий у крыс из группы СТЗ-СД (рис. 4). Можно предположить, что  $K_{\text{АТФ}}$ -каналы практически не принимают участия в формировании эндотелий-зависимой дилатации церебральных артерий и в этом процессе задействованы другие сигнальные пути [21]. Однако, в отличие от контрольной группы 1, число дилатаций пиальных артерий на PI + ACh примерно такое же, как на PI, т.е. расширение сосудов идет преимущественно за счет открывания  $K_{\text{АТФ}}$ -каналов. Налицо явное противоречие. Тут следует вспомнить, что СД2 приводит к эндотелиальной дисфункции и уменьшению выработки NO посредством каскада L-аргинина/eNOS/NO. При СТЗ-СД NO производится в основном за счет iNOS [27], т.е. имеет место не эндотелий-зависимая дилатация. Изучение механизмов реактивности церебральных сосудов при СТЗ-СД является следующей задачей авторского коллекттива.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У крыс со СТЗ-СД  $K_{\text{АТФ}}$ -каналы принимают участие в формировании базального тонуса пиальных артерий, но вклад этих каналов снижен в среднем в 1,5 раза по сравнению со здоровыми крысами.

Применение глибенкламида при СТЗ-СД не влияет на эндотелий-зависимую дилатацию церебральных артерий.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования** — госбюджет. Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030 гг.), тема 0134-2019-0001.

**Конфликта интересов** относительно публикации этой статьи не существует.

**Участие авторов.** Соколова И.Б. — концепция и дизайн исследования, сбор данных, обработка данных, написание и редактирование статьи; Лобов Г.И. — концепция исследования, редактирование и финаль-

ное утверждение рукописи. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Чернышова Т.Е., Стяжкина С.Н. Глибенкламид: место в современной терапии сахарного диабета 2 типа // *Эффективная фармакотерапия*. — 2023. — Т. 19. — №31. — С. 18–23. [Chernyshova TE, Styazhkina SN. Glibenclamide: a place in modern therapy of type 2 diabetes mellitus // *Effective pharmacotherapy*. 2023;19(31):18-23 (in Russ.)] doi: <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2023-19-31-18-23>
- Faraji A, Tahamtani L, Maharlouei N, et al. Effects of oral glibenclamide versus subcutaneous insulin on perinatal outcome of patients with gestational diabetes mellitus: A randomized clinical trial. *Asadi N. Obstet Med*. 2023;16(2):98-103. doi: <https://doi.org/10.1177/1753495X221100167>
- Sun D, Wang J, Toan S, et al. Molecular mechanisms of coronary microvascular endothelial dysfunction in diabetes mellitus: focus on mitochondrial quality surveillance. *Angiogenesis*. 2022;18. doi: <https://doi.org/10.1007/s10456-022-09835-8>
- Price JM, Chi X, Hellermann G, Sutton ET. Physiological levels of beta-amyloid induce cerebral vessel dysfunction and reduce endothelial nitric oxide production. *Neural Res*. 2001;23(5):506-12. doi: <https://doi.org/10.1179/016164101101198758>
- White MF, Kahn CR. Insulin action at molecular level — 100 years of progress. *Mol Metab*. 2021;52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2021.101304>
- Ahmad MN, Farah AI, Al-Qirimi TM. The cardiovascular complications of diabetes: a striking link through protein glycation. *Rom J Intern Med*. 2020;58(4):188-198. doi: <https://doi.org/10.2478/rjim-2020-0021>
- Балаболкин М.И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете // *Сахарный диабет*. — 2002. — Т.5. — №4. — С.18-16. [Balabolkin MI. Rol' glikirovaniya belkov, oksiditel'nogo stressa v patogeneze sosudistykh oslozhneniy pri sakharnom diabete. 2002;5(4):8-16 (in Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM200248-16>
- Cao X, Xia Y, Zeng M, et al. Caffeic acid inhibits the formation of advanced glycation end products (AGEs) and mitigates the AGEs-induced oxidative stress and inflammation reaction in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). *Chem Biodivers*. 2019;16(10):e1900174. doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900174>
- Nichols CG, York NW, Remedi MS. ATP-Sensitive Potassium Channels in Hyperinsulinism and Type 2 Diabetes: Inconvenient Paradox or New Paradigm? *Diabetes*. 2022;71(3):367-375. doi: <https://doi.org/10.2337/db21-0755>
- Szeto V, Chen NH, Sun HS, Feng ZP. The role of K<sub>ATP</sub> channels in cerebral ischemic stroke and diabetes. *Acta Pharmacol Sin*. 2018;39(5):683-694. doi: <https://doi.org/10.1038/aps.2018.10>
- Syed AU, Koide M, Brayden JE, Wellman G. Tonic regulation of middle meningeal artery diameter by ATP-sensitive potassium channels. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2019;39(4):670-679. doi: <https://doi.org/10.1177/0271678X17749392>
- Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological Res*. 2005;52(4):313-320. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2005.05.004>
- Спасов А.А., Бабков Д.А., Мулеева Д.Р., Майка О.Ю. Моделирование сахарного диабета типа 2 у крыс на высокожировой диете с индукцией стрептозоточином // *Вестник ВолгГМУ*. — 2017. — Т. 1. — №61. — С. 30-32 [Spasov AF, Babkov DA, Muleeva DR, Mayka OYu. Modeling streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus in rats on a high-fat diet // *Bulletin of the VolgSMU*. 2017;1(61):30-31(in Russ.)]
- Balog M, Ivic V, Scitovski R, et al. A mathematical model reveals sex-specific changes in glucose and insulin tolerance during rat puberty and maturation. *Croat Med J*. 2020;61(2):107-118. doi: <https://doi.org/10.3325/cmj.2020.61.107>
- Якимов И.Ю., Бородин Д.А., Подрезов И.К. и др. Морфометрические параметры белой жировой ткани разной локализации у крыс при высокожировой диете // *Современные проблемы науки и образования*. — 2015. — №5. [Yakimovich IY, Borodin DA, Podrezov IK, et al. White adipose tissue morphometric characteristics in hi-fat diet rats. *Modern problems of science and education*. 2015;5 (In Russ.)]
- Gorshkova OP, Sokolova IB. H<sub>2</sub>S-mediated dilation of pial arteries in rats of different ages: contribution of K<sub>ATP</sub> and BK<sub>Ca</sub> channels. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2023;59(4):1414-1425. doi: <https://doi.org/10.1134/S1234567823040328>
- Tseng CH. Dementia risk in type 2 diabetes patients: acarbose use and its joint effects with metformin and pioglitazone. *Aging Dis*. 2020;11(3):658-667. doi: <https://doi.org/10.14336/AD.2019.0621>
- Arshad NA, Lin TS, Yahaya MF. Metabolic syndrome and its effect on the brain: possible mechanism. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2018;17(8):595-603. doi: <https://doi.org/10.2174/1871527317666180724143258>
- Sancho M, Fletcher J, Welsh DG. Inward rectifier potassium channels: membrane lipid-dependent mechanosensitive gates in brain vascular cells. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:869481. doi: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.869481>
- Zeidner G, Sadja R, Reuveny E. Redox-dependent gating of G protein-coupled inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels. *J Biol Chem*. 2001;276(38):35564-70. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M105189200>
- Гусакова С.В., Смаглий Л.В., Бирулина Ю.Г. и др. Молекулярные механизмы действия газотрансмиттеров NO, CO и H<sub>2</sub>S в гладкомышечных клетках и влияние NO-генерирующих соединений (нитратов и нитритов) на среднюю продолжительность жизни // *Успехи физиологических наук*. — 2017. — Т. 48. — №1. — С. 24-52. [Gusakova SV, Smaglyi LV, Birulina YG, et al. Molecular mechanisms of action of gas transmitters NO, CO and H<sub>2</sub>S in smooth muscle cells and effect of NO-generating compounds (nitrates and nitrites) on average life expectancy. *Advances in physiological sciences*. 2017;48(1):24-52 (in Russ.)]
- Weber S, Patel R, Lutsep H. Cerebral amyloid angiopathy: diagnosis and potential therapies. *Expert Rev Neurother*. 2018;18(6):503-513. doi: <https://doi.org/10.1080/14737175.2018.1480938>
- Kakoty V, Kc S, Kumari S, et al. Brain insulin resistance linked Alzheimer's and Parkinson's disease pathology: An undying implication of epigenetic and autophagy modulation. *Inflammopharmacology*. 2023;23. doi: <https://doi.org/10.1007/s10078-023-01187-z>
- Greenberg SM, Bacskai BJ, Hernandez-Guillamon M, et al. Cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer disease - one peptide, two pathways. *Nat Rev Neurol*. 2020;16(1):30-42. doi: <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0281-2>
- Maqoud F, Scala R, Hoxha M, et al. ATP-sensitive potassium channel subunits in neuroinflammation: novel drug targets in neurodegenerative disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2022;21(2):130-149. doi: <https://doi.org/10.2174/1871527320666210119095626>
- Nuñez-Diaz C, Pocevičiūtė D, Schultz N, et al. Contraction of human brain vascular pericytes in response to islet amyloid polypeptide is reversed by pramlintide. *Mol Brain*. 2023;16(1):25. doi: <https://doi.org/10.1186/s13041-023-01013-1>
- Sokolova IB. Involvement of inducible nitric oxide synthase in pial arterial tone formation under metabolic disorders and streptozotocin-induced diabetes in rats kept on a high-fat diet. *J of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2022;58(5):1482-1490. doi: <https://doi.org/10.1134/S0022093022050180>

**ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]**

\***Соколова Ирина Борисовна**, к.б.н. [**Irina B. Sokolova**, PhD in Biology]; адрес: Россия, 188680, Ленинградская обл., с. Павлово, ул. Быкова, д. 36 [address: 36 Bykova str., 188680 Pavlovo village, Leningrad Region, Russia];  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7483-1080>; eLibrary SPIN: 6470-0190; e-mail: SokolovaIB@infran.ru

**Лобов Геннадий Иванович**, д.м.н., профессор [Gennadii I. Lobov, MD, PhD, Professor];  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3088-4647>; eLibrary SPIN: 6436-1404; e-mail: gilobov@yandex.ru

**ЦИТИРОВАТЬ:**

Соколова И.Б., Лобов Г.И. Влияние глибенкламида на функциональную активность КАТФ-каналов церебральных артерий у крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом // *Сахарный диабет*. — 2024. — Т. 27. — №4. — С. 304-312. doi: <https://doi.org/10.14341/DM13103>

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Sokolova IB, Lobov GI. The Effect of Glibenclamide on the Functional Activity of KATP Channels of Cerebral Arteries in Rats with Streptozotocin Diabetes Mellitus. *Diabetes Mellitus*. 2024;27(4):304-312. doi: <https://doi.org/10.14341/DM13103>