



Tratamiento con Nicorandil Mejora el Control Glicémico y Reduce el Daño Oxidante en Músculo Cardíaco de Ratas Diabéticas

Villicaña Gómez Erick Andrés¹, Sánchez Duarte Sarai³, Márquez Gamiño Sergio², Vera Delgado Karla Susana², Muñoz Guevara Margarita¹, Córdova de los Santos Víctor Hugo², Sánchez Duarte Elizabeth²

1. Licenciatura en Ciencias de la Actividad Física y Salud, División de Ciencias de la Salud, Campus León, Universidad de Guanajuato.
2. Departamento de Ciencias Aplicadas al Trabajo, Campus León, Universidad de Guanajuato
3. Facultad de Químico Farmacobiología, UMSNH.

Resumen

La diabetes mellitus (DM) se define como un grupo de enfermedades metabólicas que están asociadas con la presencia de un estado hiperglucémico debido a alteraciones en la liberación y/o función de la insulina. En músculo cardíaco, los canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}) acoplan el estado metabólico de la célula con la excitabilidad de la membrana, ejerciendo un efecto protector frente al estrés metabólico. Se ha indicado que la DM está asociada con una disfunción de los canales K_{ATP} , disminuyendo su rol protector y contribuyendo a una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno. Por otra parte, la apertura de los canales K_{ATP} a través del uso de fármacos como el nicorandil se ha visto relacionada con una reducción de los marcadores de estrés oxidativo. Por lo tanto, en el presente estudio se evaluaron los efectos del nicorandil sobre la peroxidación lipídica, lo cual es un indicador de estrés oxidativo en el músculo cardíaco de ratas diabéticas. Se utilizaron ratas macho Wistar (70–80 g). La inducción de diabetes fue farmacológicamente vía intraperitoneal con estreptozotocina (100 mg/kg de peso corporal). La diabetes fue confirmada 48 horas post-inducción, cuando la concentración de glucosa basal en sangre fue ≥ 300 mg/dL. El tratamiento consistió en la administración de nicorandil (3 mg/kg/día) durante 4 semanas. Al finalizar los tratamientos, los niveles de lipoperoxidación fueron analizados espectrofotométricamente. Los resultados

Vol. 6 (2019) 7º Encuentro de Jóvenes Investigadores



evidencian que el nicorandil contribuyó a una disminución en los niveles de glucosa basal en ratas diabéticas, impactando positivamente en el tejido cardiaco por un efecto antioxidante al disminuir la peroxidación lipídica, lo cual sugiere que la activación de los canales K_{ATP} protege contra el daño oxidativo generado por la DM.

Introducción

Diabetes mellitus tipo 1

La Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1) es una enfermedad crónica caracterizada por una deficiencia de insulina debido a una respuesta autoinmune que afecta a las células β del páncreas resultando en niveles de glucosa en sangre elevados (DiMeglio, Evans-Molina, & Oram, 2018).

Diabetes mellitus y estrés oxidante en músculo cardíaco

En el desarrollo de la diabetes mellitus, las condiciones hiperglucémicas favorecen la activación de vías que aumentan la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO). Entre estas vías están: la autooxidación de la glucosa, la vía del sorbitol, la activación de PCK a partir de la generación de diacilglicéridos, y la generación de productos de glicosilación avanzados. Todos estos procesos abonan a la formación de ERO (Ahmad et al., 2014; Bandeira et al., 2013).

La actividad de los sistemas antioxidantes es importante para hacer frente a la peroxidación lipídica. No obstante, en la diabetes mellitus, sistemas antioxidantes como las glutatión peroxidasas y aldehído deshidrogenas están disminuidos (Hauck & Bernlohr, 2016).

Un desbalance en la producción de ERO y los sistemas antioxidantes lleva a un estado de estrés oxidativo. El estrés oxidativo se definió por primera vez en 1985 como un disturbio en el equilibrio pro-oxidante–antioxidante, este a favor de los oxidantes. Se caracteriza por el daño a los componentes celulares, principalmente



lípidos, proteínas y ADN en los sistemas biológicos (Gomez-Cabrera, Viña, & Ji, 2009).

En la DM1 existe un remodelamiento cardíaco derivado de los procesos fisiopatológicos que se desarrollan en el curso de la enfermedad. Las ERO se destacan por su papel mediador e intermediario de los acontecimientos subyacentes a este remodelamiento (Bugger & Abel, 2014). Este fenómeno está asociado en la patogenia de la insuficiencia cardíaca congestiva, hipertrofia cardíaca y enfermedad isquémica del corazón (Moris et al., 2017).

Canales de Potasio Sensibles a ATP (K_{ATP}) y músculo cardíaco

Los canales K_{ATP} son complejos heterooctaméricos constituidos por dos tipos de subunidades proteicas, cuatro forman el poro del canal de potasio (Kir) y cuatro receptoras de sulfonilureas con funciones regulatorias (SUR)(Nichols, 2006). Dependiendo del tejido, se encontrarán diferentes isoformas de las subunidades. Las Kir6.1 y Kir 6.2 son codificadas por los genes KCJN8 y KCJN11 respectivamente (Nichols, 2006). En el caso de las SUR1 por el gen ABCC8, mientras que SUR2A y SUR2B por ABCC9 (Nichols, Singh, & Grange, 2013). En los miocitos cardíacos en ventrículos de murinos se expresan predominantemente las isoformas Kir 6.2 y SUR2A (Nichols et al., 2013).

La importancia de los canales K_{ATP} reside en que acoplan el estado metabólico con la excitabilidad de las células (Nichols, 2006; Tinker, Aziz, Li, & Specterman, 2018). Estos censan la tasa de ATP/ADP, activándose al momento de la interacción de nucleótidos de ADP-Mg a nivel de los sitios de unión NBF1 y NBF2 de la subunidad reguladora SUR, generando un cambio conformacional en el poro aperturándolo. En cambio, la unión de ATP con la subunidad Kir6.x ocasionará que el canal pase a un estado no permisivo o cerrado (Flagg, Enkvetchakul, Koster, & Nichols, 2010; Nichols, 2006).



Uno de los roles más estudiados de los canales K_{ATP} en miocardio es su participación en periodos de estrés metabólico, tales como isquemia, inhibición metabólica y anoxia (Nichols et al., 2013). Los canales K_{ATP} al favorecer la salida de K^+ intracelular, preservan la hiperpolarización de membrana provocando una disminución en la liberación de Ca^{2+} , disminuyendo los requerimientos de ATP consumidos por las ATPasas dependientes de Ca^{2+} , reduciendo el consumo energético y preservando la integridad celular (Gong, Legault, Miki, Seino, & Renaud, 2003; Koganti et al., 2015; Nichols et al., 2013; Scott et al., 2016). Diferentes estudios señalan que la apertura de los canales K_{ATP} a través de estrategias farmacológicas ha sido relacionada con la disminución de marcadores indirectos de estrés oxidativo (Kurhaluk & Tkachenko, 2016).

Nicorandil y activación de los canales K_{ATP}

El nicorandil (N-[2-hidroxyetil]-nicotinamida nitrato) es un fármaco híbrido que es un abridor específico de los canales K_{ATP} (Sato, Sasaki, O'Rourke, & Marbán, 2000), además ser un donador de óxido nítrico (Ishibashi et al., 2008).

En cuanto a los efectos del nicorandil en diabetes mellitus, Dymkowska et al. (2014) señalan que la aplicación de un abridor de los canales K_{ATP} en células musculares disminuye la resistencia a la insulina. Asimismo se han reportado antecedentes de sus propiedades antioxidantes en miocardio en condiciones de diabetes mellitus (Serizawa, Yogo, Aizawa, Tashiro, & Ishizuka, 2011; Zhang et al., 2018).

El efecto cardioprotector del nicorandil también es señalado por Afzal et al. (2016) al preservar la función y prevenir la muerte celular de miocitos cardíacos de ratones sujetos a lesión por isquemia y reperfusión.

En el remodelamiento cardíaco por diabetes mellitus existe un aumento en la apoptosis e inflamación celular. Los mecanismos propuestos son el aumento del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), caspasa 3 y la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). Sumado a esto existe una disminución de la actividad de la óxido



nítrico sintetasas endotelial (eNOS). Lo anterior disminuye la angiogenesis, provocando un aumento de fibrosis tisular afectando la contractibilidad cardíaca. El nicorandil al actuar como donador de óxido nítrico contrarresta estos procesos patológicos; aumenta la actividad de eNOS y decremента la de iNOS siendo una alternativa en el tratamiento de complicaciones cardíacas relacionadas con la diabetes, como es la insuficiencia cardíaca (Mohamed, Ahmed, Attia, & Khattab, 2015; Wang et al., 2019).

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto del nicorandil sobre el control glicémico y el daño oxidante en músculo cardíaco de ratas diabéticas

Objetivos específicos

Explorar el efecto del nicorandil sobre los niveles de glicemia y la sensibilidad a la insulina en ratas diabéticas.

Cuantificar los niveles de peroxidación lipídica en el músculo cardíaco de ratas diabéticas.

Justificación

A nivel mundial existen 425 millones de personas diagnosticadas con Diabetes Mellitus, el 10 % de estos individuos tienen Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1). En México, el número de casos de DM1 en niños y adolescentes (0-19 años) se estima en 26.6 por cada 1000 individuos, mientras que la cantidad de casos nuevos por año es de 5.4 por cada 100000 personas.

Las personas con DM1 tienen tres veces mayor riesgo de mortalidad que la población general. Una aparición prematura de enfermedades cardiovasculares (ECV) es la principal causa de la elevada mortalidad. La hiperglucemia constante propia de la DM1 provoca un incremento en la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO). Aunado a este aumento, una disminución de los sistemas



antioxidantes ocasiona estrés oxidativo; éste se relaciona con el desarrollo de complicaciones a nivel macrovascular y microvascular en DM1.

Los canales K_{ATP} constituyen un sensor que acopla el estado metabólico con la excitabilidad de las células, ligando también el estado redox mitocondrial y los niveles de ERO. Se ha reportado que la utilización de fármacos abridores de los canales K_{ATP} tiene diversos efectos en el sistema cardiovascular en diferentes patologías como son: hipertensión, angina, insuficiencia cardíaca y arritmias.

El nicorandil, es un abridor selectivo de los canales K_{ATP} que ha mostrado tener un efecto benéfico en lesiones de isquemia-reperfusión, propiedades antioxidantes y mejorar la sensibilidad a insulina. La aplicación de un tratamiento con nicorandil en DM1 puede representar una estrategia que contribuya a mejorar el control glucémico y disminuir los marcadores de estrés oxidativo propios de la enfermedad.

Metodología

Modelo experimental

El uso de los animales se hizo en concordancia con la NOM-062-ZOO-1999 y el comité de ética de la Universidad de Guanajuato. Se utilizaron ratas Wistar macho (80-90 g) del bioterio del Departamento de Ciencias Aplicadas al Trabajo (DCAT) de la Universidad de Guanajuato. Los animales se alojaron en jaulas de acrílico a temperatura controlada (24°C) con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas. Se les proveía libre acceso a comida (dieta estándar) y agua.

Inducción de Diabetes Experimental

Para la generación de los grupos con Diabetes se utilizó el fármaco estreptozotocina (STZ) (Sigma Aldrich, S030, Saint Louis, MO, USA) en una dosis única de 100 mg/kg de peso. Antes de la administración, la STZ se disolvió en tampón fosfato salino (PBS) y se llevó a un pH de 4.53 usando ácido cítrico. Las ratas se sometieron a un periodo de 12 de ayuno; en estas condiciones se



administró la STZ vía intraperitoneal. El criterio para determinar exitosa la inducción de diabetes fue una glucemia en ayuno ≥ 250 mg/dl. La medición se hizo al día siguiente de la administración del fármaco con un glucómetro digital (Accu-Check Performa, Roche, Indianápolis, IN, USA) usando una gota de sangre de la cola del animal.

Protocolo experimental

Los animales fueron divididos en 4 grupos, cada uno de 5 ratas: Grupo 1: Ratas normoglucémicas inyectadas con vehículo, como control. Grupo 2: Ratas diabéticas. Grupo 3: Ratas diabéticas + Nicorandil (abridor de los canales KATP). Grupo 4: Ratas normoglucémicas + Nicorandil (mg/kg). La dosis aplicada de Nicorandil fue acorde a lo reportado por Abdel-Raheem et al. (2013). Todos los grupos fueron monitoreados durante 8 semanas; a partir de la semana 4 el tratamiento con nicorandil (3 mg/kg/día), administrado vía intraperitoneal, durante 4 semanas.

Medición de glucosa

Todos los grupos experimentales fueron sometidos una vez por semana, durante las 8 semanas de duración del protocolo experimental a mediciones de glucosa basal (ayuno), utilizando un glucómetro Accu Check Performa.

Prueba de tolerancia a la insulina

Al finalizar el tiempo de tratamiento, las ratas de experimentación recibieron una dosis de insulina humana de acción rápida regular (0.75 U/kg de peso corporal), inmediatamente después de recoger una muestra de glucosa basal. Las concentraciones de glucosa en sangre se midieron a partir de la línea de base (inmediatamente antes de la administración de insulina a $t=0$ min), eventualmente los niveles de glucosa fueron medidos en los 30 min (0.5 h), 60 min (1 h), 90 min (1.5 h) y 120 min (2 h) post-inyección. Para el análisis, los valores obtenidos de la respuesta de la glucosa en sangre durante los diferentes tiempos de monitoreo



fueron cuantificados como el área bajo la curva para cada rata, de acuerdo a el método trapezoidal (GraphPad Prism 5.01).

Obtención de muestras

Después de 8 semanas de tratamiento, las ratas fueron eutanizadas por dislocación cervical y se procedió a la extirpación de una porción del ápice del músculo cardíaco. Para la conservación del tejido se utilizó solución Ringer con las siguientes concentraciones mM: NaCl 130, KCl 3, CaCl₂ 1, MgCl₂ 1, HEPES 10 y D-glucosa 10, la cual se ajustó con un pH de 7.40 con NaOH. La solución se hizo con agua desionizada, libre de pirógenos, (ultrafiltrada) con impedancia de 18 MΩ (Millipore, Elix 3, Billerica, MA, USA). Dichos músculos fueron almacenados en tubos Eppendorf mantenidos a -80 °C hasta sus posteriores análisis bioquímicos de los tejidos.

Evaluación de la peroxidación de lípidos

La determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) fue realizada como un marcador de peroxidación de lípidos en el músculo esquelético en homogenados de los músculos sóleo y gastrocnemio, mediante el método descrito por Ratajczak-Wrona, et al. (2013), con algunas modificaciones. La concentración de proteína de los homogenados de músculo se midió para normalizar los resultados y se determinó por el método de Biuret (Gornall et al. 1949) utilizando albúmina de suero bovino como proteína estándar. Posteriormente, el homogenado de músculo 0.5mg/ml fue re suspendido en 1 ml de buffer de fosfato (50 mM KH₂PO₄, pH7.6) al que también se agregó 2mL de solución ácida (ácido tricloroacético, ácido tiobarbiturico y ácido clorhídrico), los tubos se incubaron en baño maría durante 30 min. Posteriormente, los tubos se colocaron en hielo 5 min y enseguida se centrifugaron a 7500 rpm durante 5 min. La absorbancia de cada muestra se determinó a 532 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 18UV/VS. Los datos se expresaron como nmolas de TBARS/mg de proteína.



Resultados

Efectos del nicorandil sobre la glucemia en ayuno

En la Figura 1, se muestran gráficamente los niveles de glucosa basal (ayuno), los cuales fueron medidos una vez por semana, durante las 4 semanas que duró el tratamiento con nicorandil. En la semana 0, se muestra la glicemia antes de iniciar con el tratamiento y post inducción de la diabetes con estreptozotocina (STZ); en las semanas posteriores se muestran los datos graficados del resto del tiempo con tratamiento (1 - 4 semanas). No se observaron diferencias entre el grupo control normal y el grupo control con tratamiento (nicorandil). Sin embargo, nicorandil si tiene efectos significativos ($P < 0.05$; $n=6$) sobre la glucemia en condiciones de diabetes, lo cual se hizo notar a partir de la semana 2. En las semanas consecutivas (3 y 4), nicorandil fue mejorando la glucemia en la diabetes, esto comparado al grupo diabético ($P \leq 0.001$; $n=6$). En la Tabla 1, se muestran los valores de las mediciones de glucosa (ayuno) obtenidas durante el tiempo de protocolo, como promedio \pm error estándar, de cada uno de los grupos experimentales estudiados.

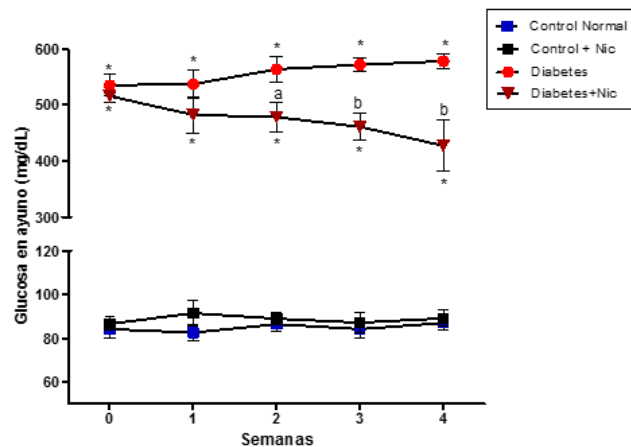


Figura 1. Niveles de glucosa en ayuno en todos los grupos experimentales durante el protocolo de tratamiento con nicorandil. Muestra las mediciones de glucosa a partir de la semana 1 (post inducción de diabetes) y a partir de la semana 4, inicio de tratamiento con nicorandil (Nic). Los valores son mostrados como promedio \pm error estándar (ES), $n = 6$; * $p \leq 0.001$ vs. Control normal; a $p \leq 0.05$, b $p \leq 0.001$ vs. Diabetes. Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías, seguido de una prueba de comparación múltiple post-hoc de Bonferroni.



GRUPOS	SEMANAS				
	0	1	2	3	4
Control	84.2 ± 4.07	82.6 ± 3.82	86.4 ± 3.35	84.2 ± 4.07	87 ± 3.43
Control + Nic	86.66 ± 3.02	91.5 ± 5.68	89 ± 2.58	87.16 ± 4.39	89.16 ± 3.57
Diabetes	535 ± 19.40*	536.8 ± 24.58*	563.6 ± 10.97*	571.6 ± 10.97*	577.8 ± 12.44*
Diabetes + Nic	545.6 ± 10.23*	482.2 ± 32.87*	478 ± 26.53 ^a	461 ± 23.36 ^b	427 ± 46.03 ^b

Tabla 1. Niveles de glucosa en ayuno en todos los grupos experimentales durante el protocolo de tratamiento con Nicorandil. Los valores son mostrados como promedio ± error estándar (ES), n= 6; *p ≤ 0.001 vs. Control normal; ^ap ≤ 0.05, ^bp ≤ 0.001 vs. Diabetes.

Efectos del nicorandil en la prueba de tolerancia a la insulina

A fin de analizar si la mejora de la glucemia en ayunas se relaciona con una mayor sensibilidad a la insulina, realizamos una prueba de tolerancia a la insulina en los diferentes grupos experimentales (Figura 2A). La prueba se realizó 24 h después de finalizar el protocolo de tratamiento (4 semanas) con Nicorandil. Los niveles de glucosa en ayuno (t=0 min) fueron comparados entre los diferentes grupos experimentales. En todos los grupos, la insulina indujo una disminución en los niveles de glucosa, los cuales se hicieron más evidentes en el grupo con diabetes tratado con nicorandil (Diabetes + Nic), indicando que existe mayor tolerancia a la insulina en estas ratas, mostrándose una disminución significativa en el minuto 60, comparado con el grupo diabético sin tratamiento (Figura 2A). El nicorandil no modificó la sensibilidad a la insulina en condiciones control, comparado al grupo control normal. No obstante, en el grupo con diabetes + nicorandil (Nic) se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$) en la sensibilidad a la insulina a partir del minuto 60, post inyección de la insulina. Para estimar de mejor manera la prueba de tolerancia a la insulina, se calculó el área bajo la curva de los cambios en la glucosa en respuesta a la insulina durante los 120 min (Figura 2B). Estos resultados indican que el modelo de diabetes inducido con STZ presenta una elevada resistencia a la insulina, lo cual fue mejorado con nicorandil, al incrementar significativamente la sensibilidad a la insulina ($p < 0.01$)

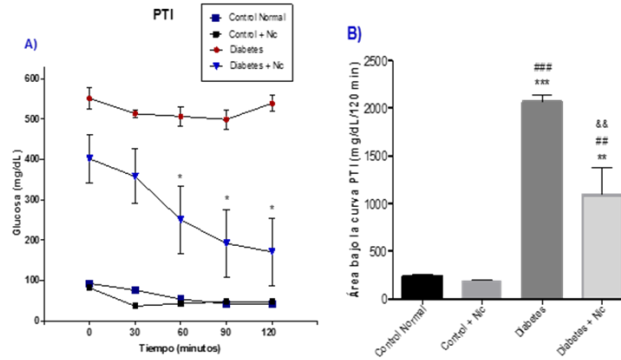
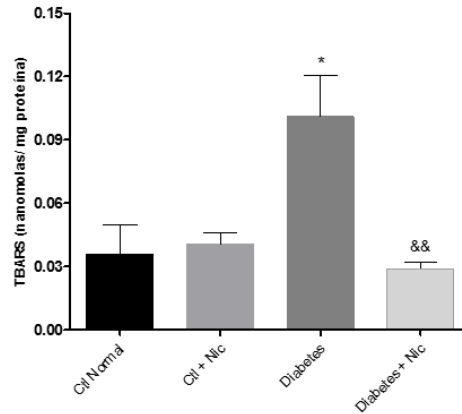


Figura 2. Prueba de Tolerancia a la Insulina (PTI) en todos los grupos experimentales. En A), se muestran los niveles de glucosa (mg/dL) medidos en los diferentes tratamientos en función del tiempo (0, 30, 60, 90 y 120 min) ($*p \leq 0.05$). Todas las ratas recibieron una inyección de 0.75 U insulina/kg de peso corporal en el tiempo 0. En B), se muestran los valores del área bajo la curva (ABC) en mg/dL durante un periodo de 120 min. Los valores son mostrados como promedio \pm error estándar (ES), $n = 6$; $**p \leq 0.01$; $***p \leq 0.001$ vs. Control normal, $###p \leq 0.01$ vs. Control Nic, $&&p \leq 0.01$ vs. Diabetes. Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía, seguido de una prueba de comparación múltiple post-hoc de Tukey.

Efectos del nicorandil en la prueba de tolerancia a la insulina

La Figura 3 muestra los niveles de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) como indicador de la peroxidación lipídica. No se observaron diferencias entre el grupo control y en el grupo control con tratamiento (Nicorandil). El grupo diabetes presenta niveles significativamente más altos ($p < 0.05$) que el control. En cuanto al grupo diabetes con tratamiento, se muestra una marcada reducción de las TBARS ($p < 0.01$) respecto al grupo diabetes sin tratamiento. De este modo se evidencia el daño oxidante que existe en la diabetes y como el nicorandil lo reduce.



* $p < 0.05$ comparado vs grupo Control (Ctl Normal); && $p < 0.01$ comparado vs grupo Diabetes

Figura 3. Niveles de TBARS en todos los grupos experimentales durante el protocolo de tratamiento con nicorandil. Los valores son mostrados como promedio \pm error estándar (ES), $n = 6$; * $p \leq 0.05$ vs. Control normal; && $p \leq 0.01$ vs. Diabetes. Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías, seguido de una prueba de comparación múltiple post-hoc de Bonferroni.

Conclusiones

El nicorandil mejora la glicemia en ayuno al mejorar la sensibilidad a la insulina en ratas diabéticas.

El nicorandil reduce el daño oxidante al disminuir la peroxidación lipídica en músculo cardíaco de ratas diabéticas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias al convenio UGTO-PTC-667, SIGCIC237/2019. Agradecer a los profesores del DCAT por su apoyo en la creación y desarrollo del proyecto, en especial a la Dra. Sánchez. De igual manera a la Dra. Montoya y a la U.M.S.N.H por poder acceder a sus laboratorios, y a Sarai Sánchez por su orientación y colaboración en la experimentación.

Referencias

Abdel-Raheem, I. T., Taye, A., & Abouzied, M. M. (2013). *Cardioprotective effects of nicorandil, a mitochondrial potassium channel opener against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats*. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology, 113(3), 158–166. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12078>

Afzal, M. Z., Reiter, M., Gastonguay, C., McGivern, J. V., Guan, X., Ge, Z. D., ... Strande, J. L. (2016). *Nicorandil, a Nitric Oxide Donor and ATP-Sensitive Potassium Channel Opener, Protects Against Dystrophin-Deficient Cardiomyopathy*. Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics, 21(6), 549–562. <https://doi.org/10.1177/1074248416636477>



Ahmad, S., Khan, M. S., Akhter, F., Khan, M. S. aji., Khan, A., Ashraf, J. M., ... Shahab, U. (2014, November 1). *Glycooxidation of biological macromolecules: a critical approach to halt the menace of glycation*. *Glycobiology*. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwu057>

Bandeira, S. de M., da Fonseca, L. J. S., Guedes, G. da S., Rabelo, L. A., Goulart, M. O. F., & Vasconcelos, S. M. L. (2013, February). *Oxidative stress as an underlying contributor in the development of chronic complications in diabetes mellitus*. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms14023265>

Bugger, H., & Abel, E. D. (2014). *Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy*. *Diabetologia*, 57(4), 660–671. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3171-6>

DiMeglio, L. A., Evans-Molina, C., & Oram, R. A. (2018). *Type 1 diabetes*. *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31320-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31320-5)

Dymkowska, D., Drabarek, B., Jakubczyk, J., Wojciechowska, S., & Zabłocki, K. (2014). *Potassium channel openers prevent palmitate-induced insulin resistance in C2C12 myotubes*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 541(1), 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.11.003>

Flagg, T. P., Enkvetchakul, D., Koster, J. C., & Nichols, C. G. (2010). *Muscle K ATP Channels: Recent Insights to Energy Sensing and Myoprotection*. *Physiological Reviews*, 90(3), 799–829. <https://doi.org/10.1152/physrev.00027.2009>

Gomez-Cabrera, M. C., Viña, J., & Ji, L. L. (2009). *Interplay of oxidants and antioxidants during exercise: Implications for muscle health*. *Physician and Sportsmedicine*, 37(4), 116–123. <https://doi.org/10.3810/psm.2009.12.1749>

Gong, B., Legault, D., Miki, T., Seino, S., & Renaud, J. M. (2003). *K ATP channels depress force by reducing action potential amplitude in mouse EDL and soleus muscle*. *Am J Physiol Cell Physiol*, 285, 1464–1474. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00278.2003.-A1>

Hauck, A. K., & Bernlohr, D. A. (2016). *Thematic review series: Lipotoxicity: Many roads to cell dysfunction and cell death: Oxidative stress and lipotoxicity*. *Journal of Lipid Research*, 57(11), 1976–1986. <https://doi.org/10.1194/jlr.R066597>

Ishibashi, Y., Takahashi, N., Tokumaru, A., Karino, K., Sugamori, T., Sakane, T., ... Shimada, T. (2008). *Effects of long-term nicorandil administration on endothelial function, inflammation, and oxidative stress in patients without coronary artery disease*. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 51(3), 311–316. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e318163a95f>



Koganti, S. R. K., Zhu, Z., Subbotina, E., Gao, Z., Sierra, A., Proenza, M., ... Zingman, L. (2015). *Disruption of KATP channel expression in skeletal muscle by targeted oligonucleotide delivery promotes activity-linked thermogenesis*. *Molecular Therapy*. <https://doi.org/10.1038/mt.2015.21>

Kurhaluk, N., & Tkachenko, H. (2016). *Modulators of KATP channels in the prevention of oxidative stress and antioxidant capacity improvement in the rat heart with different resistance to hypoxia upon cobalt treatment*. *Journal of Veterinary Research (Poland)*, 60(2), 195–206. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2016-0029>

Mohamed, S. S., Ahmed, L. A., Attia, W. A., & Khattab, M. M. (2015). *Nicorandil enhances the efficacy of mesenchymal stem cell therapy in isoproterenol-induced heart failure in rats*. *Biochemical Pharmacology*, 98(3), 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.10.004>

Moris, D., Spartalis, M., Tzatzaki, E., Spartalis, E., Karachaliou, G.-S., Triantafyllis, A. S., ... Theocharis, S. (2017). *The role of reactive oxygen species in myocardial redox signaling and regulation*. *Annals of Translational Medicine*, 5(16), 324–324. <https://doi.org/10.21037/atm.2017.06.17>

Nichols, C. G. (2006). *KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism*. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/nature04711>

Nichols, C. G., Singh, G. K., & Grange, D. K. (2013). *K ATP Channels and Cardiovascular Disease*. *Circulation Research*, 112(7), 1059–1072. <https://doi.org/10.1161/circresaha.112.300514>

Ratajczak-Wrona, W., Jablonska, E., Antonowicz, B., Dziemianczyk, D., & Grabowska, S. Z. (2013). *Levels of biological markers of nitric oxide in serum of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity*. *International Journal of Oral Science*, 5(3), 141–145. <https://doi.org/10.1038/ijos.2013.59>

Sato, T., Sasaki, N., O'Rourke, B., & Marbán, E. (2000). *Nicorandil, a potent cardioprotective agent, acts by opening mitochondrial ATP-dependent potassium channels*. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(2), 514–518. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(99\)00552-5](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(99)00552-5)

Scott, K., Benkhalti, M., Calvert, N. D., Paquette, M., Zhen, L., Harper, M.-E., ... Renaud, J.-M. (2016). *K ATP channel deficiency in mouse FDB causes an impairment of energy metabolism during fatigue*. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00137.2015>

Serizawa, K. ichi, Yogo, K., Aizawa, K., Tashiro, Y., & Ishizuka, N. (2011). *Nicorandil prevents endothelial dysfunction due to antioxidative effects via normalisation of NADPH oxidase and nitric oxide synthase in streptozotocin diabetic rats*. *Cardiovascular Diabetology*, 10. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-10-105>



Tinker, A., Aziz, Q., Li, Y., & Specterman, M. (2018). *ATP-sensitive potassium channels and their physiological and pathophysiological roles*. *Comprehensive Physiology*, 8(4), 1463–1511. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170048>

Wang, X., Pan, J., Liu, D., Zhang, M., Li, X., Tian, J., ... An, F. (2019). *Nicorandil alleviates apoptosis in diabetic cardiomyopathy through PI3K/Akt pathway*. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, jcmm.14413. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14413> Zhang, M., Zhang, H., Liu, C., Li, X., Ling, M.,

Wang, Z., & Xing, Y. (2018). *Myocardial Protective Effects of Nicorandil on Rats with Type 2 Diabetic Cardiomyopathy*. *Medical Science Monitor Basic Research*, 24, 141–145. <https://doi.org/10.12659/MSMBR.910974>