

Оригинальные статьи

© Коллектив авторов, 2023

УДК 616.092

Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф.

Старение по-разному влияет на функциональную активность и экспрессию генов классических калиевых каналов внутреннего выпрямления KIR2.1 и KIR2.4 и АТФ-чувствительных K_{ATP} каналов в сосудах и сердце крыс самцов

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,
125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

Старение и связанные с ним дисрегуляционные процессы в артериях и сердце являются ведущими предикторами развития сердечно-сосудистых заболеваний. Важную роль в регуляции сократимости сосудов и миокарда играют ионные каналы.

Цель исследования – изучение влияния возраста на функциональную активность и экспрессию генов классических калиевых каналов внутреннего выпрямления *Kir2.1* и *Kir2.4*, а также K_{ATP} каналов в аорте и сердце крыс.

Методика. Эксперименты проводили на крысах самцах Wistar в возрасте 3 и 18 мес. Силу сокращения грудного отдела аорты измеряли в изометрическом режиме, экспрессию генов оценивали при помощи ПЦР анализа.

Результаты. Установлено, что у крыс в возрасте 18 мес в аорте снижается функциональная активность *Kir2.1* и *Kir2.4* каналов, в то время как уровень экспрессии этих каналов остается неизменным. В стареющих сердцах, напротив, выявлен высокий уровень экспрессии генов *Kir2.1* и *Kir2.4* каналов. Показано, что K_{ATP} каналы не влияют на серотонин-индуцированное сокращение аорты молодых крыс (3 мес), но вносят существенный вклад в развитие гиперчувствительности старых сосудов к вазоконстрикторному действию серотонина. Так, блокада K_{ATP} каналов глибенкламидом приводила к статистически значимому смещению зависимости «концентрация-эффект» на серотонин вправо только в аорте возрастных крыс. Выявлено возрастное снижение экспрессии генов порообразующей *Kir6.2* и регуляторной *Sur2* субъединиц K_{ATP} канала в аорте и, напротив, значительное повышение в сердце крыс.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о ранних возрастных изменениях функциональной активности калиевых каналов внутреннего выпрямления *Kir2.1* и *Kir2.4*, а также K_{ATP} каналов в аорте крыс самцов, которые в процессе дальнейшего старения сосудов могут способствовать развитию гипертензии. Предположено, что гиперэкспрессия *Kir2.4* и *Kir2.1* каналов в стареющем сердце может инициировать нарушения сократительной функции миокарда и возникновение аритмий в старости, в то время как высокий уровень экспрессии субъединиц K_{ATP} является показателем компенсаторно-адаптивных процессов, направленных на повышение устойчивости миокарда к гипоксии и стрессу.

Ключевые слова: старение; аорта; сердце; калиевые *Kir2.1* и *Kir2.4* и K_{ATP} каналы; сократимость; экспрессия генов; мРНК

Для цитирования: Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф. Старение по-разному влияет на функциональную активность и экспрессию генов классических калиевых каналов внутреннего выпрямления *Kir2.1* и *Kir2.4* и АТФ-чувствительных K_{ATP} каналов в сосудах и сердце крыс самцов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67(2): 5-16. DOI: 10.25557/0031-2991.2023.02.5-16

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Кожевникова Л.М.; сбор и обработка материала – Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф.; подготовка иллюстративного материала – Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф.; статистическая обработка материала – Суханова И.Ф.; написание текста – Кожевникова Л.М.; редактирование – Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Кожевникова Любовь Михайловна, e-mail: lubovmih@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № FGfU-2022-0008.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 31.03.2023

Принята к печати 18.05.2023

Опубликована 27.06.2023

Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F.

Aging has different effects on the functional activity and gene expression of classical inward-rectifying potassium channels Kir2.1 and Kir2.4 and ATP-sensitive K_{ATP} channels in blood vessels and heart of male rats

Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Aging and related dysregulatory processes in the arteries and heart are the leading predictors of cardiovascular diseases. Ion channels play an important role in the regulation of vascular and myocardial contractility.

The aim of the study was to investigate the effect of age on the functional activity and gene expression of classical inward-rectifying potassium channels Kir2.1 and Kir2.4, as well as K_{ATP} channels in the aorta and heart of rats.

Methods. Experiments were performed on Wistar male rats at 3 and 18 months of age. The force of thoracic aorta contractions was measured isometrically, and the gene expression was assessed by PCR analysis.

Results. In the aorta of 18-month-old rats, the functional activity of Kir2.1 and Kir2.4 channels was reduced while the expression of these channels remained unchanged. In the aging hearts, on the contrary, the expression level of Kir2.1 and Kir2.4 channel genes was high.

The K_{ATP} channels had no effect on serotonin-induced aortic contractions in young, 3-month-old rats, but contributed significantly to the development of hypersensitivity of aging blood vessels to serotonin-induced vasoconstriction. Thus, blockade of K_{ATP} channels with glibenclamide led to a significant shift of the concentration-effect curve of serotonin to the right only for the aorta from old rats. Age-related decreases in the gene expression of pore-forming Kir6.2 and regulatory Sur2 subunits of the K_{ATP} channel were observed in the aorta, and, *vice versa*, significant increases in their expression were observed in the rat heart.

Conclusion. The study results indicated early age-related changes in the functional activity of Kir 2.1 and Kir 2.4 inward-rectifying potassium channels, as well as of K_{ATP} channels in the aorta of male rat. During further vascular aging, these changes may contribute to the development of hypertension. It was suggested that Kir2.4 and Kir2.1 channel overexpression in the aging heart may initiate disorders of myocardial contractility and arrhythmias in older age. At the same time, a high level of K_{ATP} subunit expression indicates compensatory-adaptive processes aimed at increasing myocardial resistance to hypoxia and stress.

Keywords: aging; aorta; heart; potassium Kir2.1 and Kir2.4 and K_{ATP} channels; contractility; gene expression; mRNA.

For citation: Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F. Aging has different effects on the functional activity and gene expression of classical inward-rectifying potassium channels Kir2.1 and Kir2.4 and ATP-sensitive K_{ATP} channels in blood vessels and heart of male rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(2) 5-16. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.02.5-16

Author's contribution: concept and design of the study – Kozhevnikova L.M.; collection and processing of material – Sukhanova I.F.; preparation of illustrative material – Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F.; statistical processing – Sukhanova I.F.; text writing – Kozhevnikova L.M.; editing – Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Lyubov M. Kozhevnikova, Doctor of Medical Sciences, Major scientific researcher of the Laboratory of Chronic Inflammation and Microcirculation Institute of General Pathology and Pathophysiology Russian Academy of Sciences; Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russia, e-mail: lubovmih@yandex.ru

Financing. The study was carried out as part of a state assignment № FGFU-2022-0008.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors:

Kozhevnikova L.M., <https://orcid.org/0000-0002-1323-6472>

Sukhanova I.F., <https://orcid.org/0000-0002-1323-6472>

Received 31.03.2023

Accepted 18.05.2023

Published 27.06.2023

Введение

В настоящее время смертность от сердечно-сосудистых заболеваний составляет более 30% от общей смертности во всем мире. Эта ситуация будет ухудшаться по мере старения населения планеты. Старение является важным предиктором развития сердеч-

но-сосудистых заболеваний. Понимание механизмов, лежащих в основе старения сосудов и сердца, приобретает все большее социально-экономическое значение и является одним из важнейших биомедицинских приоритетов в современном обществе.

В основе возникновения сердечно-сосудистой патологии лежат нарушения механизмов регуляции тонуса артерий и сократительной активности кардиомиоцитов. На функцию сосудов и миокарда большое влияние оказывают многочисленные ионные каналы, расположенные на мембранах клеток и различных органелл. Индукция клеточного старения различными стрессорами приводит к увеличению внутриклеточной концентрации ионов кальция ($[Ca^{2+}]_i$) [1, 2]. Длительное повышение $[Ca^{2+}]_i$ вызывает дисфункцию митохондрий и окислительный стресс, что оказывает пагубное влияние на экспрессию генов и функцию ионных каналов [3]. Тем не менее, роли калиевых каналов в поддержании кальциевого гомеостаза в сосудах и миокарде при старении до сих пор не уделяется должного внимания. Практически не изучен вклад калиевых каналов в реализацию механизмов старения сосудов и миокарда, а полученные многочисленные данные носят противоречивый характер. В настоящей работе возрастные изменения функциональной активности калиевых каналов исследовали в аорте крыс, поскольку у пожилых людей, в отличие от молодых, артериальное давление в большей степени определяется жесткостью магистральных сосудов [4, 5]. Потеря эластичности аорты приводит к увеличению систолического давления и к нагрузке на левый желудочек сердца, что способствует развитию гипертонии, гипертрофии левого желудочка, ишемии и фиброзу сердца [6–8]. Физиологические эффекты старения магистральных сосудов, в том числе изменения их чувствительности по отношению к вазоактивным соединениям, и участие в этих процессах ионных каналов изучены недостаточно [9]. Основной ролью семейства калиевых каналов внутреннего выпрямления (Kir) является восстановление мембранного потенциала покоя при гиперполяризации за счёт проведения тока калия внутрь клетки. Клетки с большим количеством Kir-каналов сохраняют мембранный потенциал близким к равновесному потенциалу для ионов калия и не проявляют спонтанной электрической активности [10]. Каналы семейства Kir2.x конститутивно активны и демонстрируют сильную способность к входящему внутреннему выпрямлению [11, 12]. АТФ-чувствительные калиевые каналы (K_{ATP}) в отличие от классических Kir2.x каналов обладают слабыми свойствами внутреннего выпрямления [13]. Эти каналы участвуют в реализации эффектов вазоконстрикторных и вазодилататорных соединений, влияя таким образом на сократительные свойства сосудов и миокарда. Целью данной работы было изучение влияния старения на функциональную

активность и экспрессию классических Kir2.1, Kir2.4 и K_{ATP} калиевых каналов.

Методика

Эксперименты выполнены на самцах крыс породы Вистар. Содержание лабораторных животных и эксперименты проводили в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals», Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в эксперименте, и требованиями Директивы Совета ЕС «О сближении законов, постановлений и административных положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (86/609/ЕЕС), национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», а также в соответствии с разрешением Этического комитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» (протокол № 1а от 02.10. 2020).

Физиологические методы исследования. Исследования проводили на фрагментах грудного отдела аорты крыс самцов в возрасте 3 и 18 мес. В изометрическом режиме оценивали изменения сократимости колец аорты в ответ на воздействие вазоактивных соединений в присутствии и в отсутствие блокаторов калиевых каналов. Включенные в исследование животные были распределены на 2 группы: 1-я группа – самцы в возрасте 3 мес (молодые, $n = 21$); 2-я группа – самцы в возрасте 18 мес (возрастные, возраст крыс 18 мес приблизительно соответствует 45–50 человеческим годам, $n = 21$).

Анестезированных крыс (25% раствор уретана, 4 мл/кг) декапитировали, извлекали грудной отдел аорты и помещали в охлажденный до $+4^\circ\text{C}$ раствор Кребса-Хенселейта, Состав раствора Кребса-Хенселейта в мМ: NaCl – 121; KCl – 4,69; KH_2PO_4 – 1.1; NaHCO_3 – 23,8; MgSO_4 – 1,6; CaCl_2 – 1.6; ЭДТА – 0,032; D-глюкоза – 8. Фрагменты аорты очищали от жировой и соединительной тканей и нарезали на кольца шириной 1,5 – 2,2 мм, которые крепили на держателях, помещенных в раствор Кребса-Хенселейта, аэрируемый карбогеном (5% CO_2 в O_2), в волоконном четырехканальном миографе (DanishMyo Technology, модель Multi Myograph System – 620M). После достижения в камерах миографа температуры раствора $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ фрагменты аорты растягивали радиально до оптимального диаметра просвета, соответствующего 90% пассивного диаметра сосуда при 100 мм Нг. После процедуры растяжения и последующего периода стабилизации в течение 40 мин жизнеспособ-

ность сосудов проверяли с помощью 0,1 мкМ норадреналина – агониста адренорецепторов (Sigma, США). Сохранность эндотелия тестировали с помощью агониста мускариновых рецепторов 10 мкМ карбахола (Sigma). После процедуры стандартизации сосудов приступали к измерению силы сокращения колец аорты в ответ на воздействие вазоактивных соединений.

Объектами исследований были представители семейства калиевых каналов внутреннего выпрямления: классические Kir2.1 и Kir2.4, а также АТР-чувствительные ($K_{\text{АТР}}$) каналы. В экспериментах на изолированных сосудах использовали эндогенные вазоконстрикторы – норадреналин и серотонин, ингибиторы калиевых каналов: глибенкламид ($K_{\text{АТР}}$ -каналов) и BaCl₂ (Kir2-каналов) (Sigma). Для оценки вклада калиевых каналов в реализацию релаксации сосудов, индуцированной серотониновыми рецепторами 5HT_{1D}-типа применяли агонист этих рецепторов L-694.247 (Tocris, Англия).

Обработка результатов физиологических экспериментов. Результаты обрабатывали в Microsoft Excel с использованием количественных данных силы сокращения сосудов (мН), экспортированных из программного обеспечения миографа (LabChartPro). *Статистический анализ* проводили с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism 8 (GraphPad Software Inc., США). Для сравнения средних значений и статистических различий между группами использовали дисперсионный анализ (ANOVA). Данные в тексте представлены в виде средних значений и ошибки среднего. Расхождения считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

Молекулярно-биологические методы исследования.

В тканях аорты и миокарда оценивали экспрессию калиевых каналов внутреннего выпрямления Kir2.1, Kir2.4, а также порообразующей Kir6.2 и регуляторной Sur2 субъединиц $K_{\text{АТР}}$ канала.

Выделение РНК. Извлеченные из организма животных фрагменты сердца и аорты отмывали от крови в охлажденном физиологическом растворе натрия хлорида (0 – 4 °С), помещали в раствор RNeasy (США, Ambion) и хранили до выделения РНК при температуре –20 °С. Ткани измельчали в жидком азоте. Экстракцию РНК проводили с использованием набора GeneJET™ (ThermoFisher Scientific Inc., США) согласно протоколу производителя. Выделенную тотальную РНК обрабатывали ДНКазой I (Thermo Fisher Scientific Inc., США) для предотвращения загрязнения геномной ДНК. Концентрацию тотальной РНК определяли количественно на спектрофотометре NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Для проведения реакции обратной транскрипции с использо-

ванием набора Revert Aid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США) брали 1 мкг РНК. Реакцию проводили в соответствии с инструкцией производителя, используя случайные гексамерные праймеры.

Количественную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с использованием набора qPCRMix-NS («Евроген», Россия) согласно инструкции производителя праймеров. Праймеры для реакции были подобраны, синтезированы и валидированы ООО «ДНК-Синтез» (Россия) (**табл.**) Количественную ПЦР проводили в амплификаторе CFX96 Cycler-RealTime PCR Detection System (BioRad Laboratories, Inc., Hercules, США) в 96-луночной планшете, в объеме 20 мкл, используя 1 мкл кДНК. Все эксперименты включали отрицательный контроль. Реакцию проводили при следующих условиях: начальная денатурация (инициация фермента) – 3 мин при 95 °С, далее 40 циклов (денатурация – 15 с при 95 °С, отжиг / элонгация – 1 мин при 60 °С). Для нормализации уровней экспрессии генов использовали β-актин. Различия в экспрессии целевого гена оценивали по изменению соотношения уровней мРНК гена/мРНК β-актина. Отрицательные контроли были поставлены в соответствии с общепринятыми стандартами для отрицательных контролей при проведении количественной ПЦР. Реакцию проводили без фрагментов кДНК, чтобы исключить контаминацию реагентов, и с образцом тотальной РНК, чтобы исключить контаминацию кДНК геномной ДНК.

Статистический анализ результатов количественной ПЦР. Результаты обрабатывали в Microsoft Excel с использованием алгоритма 2^{-ΔΔC_t}. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism 8. Для сравнения средних значений и статистических различий между двумя группами использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Расхождения считались значимыми при $p < 0,05$. Данные в тексте представлены в виде средних значений и ошибки среднего.

Результаты и обсуждение

Возрастные изменения функциональной активности и экспрессии АТФ-чувствительных калиевых каналов в аорте и сердце крыс самцов (КАТР).

Аорта. Ранее нами было установлено, что с возрастом значительно возрастает чувствительность сосудов к вазоконстрикторному действию серотонина (5HT) [14]. В настоящем исследовании мы попыта-

лись выяснить, какую роль в возникновении возрастной гиперреактивности сосудов по отношению к 5HT играют калиевые каналы внутреннего выпрямления. Для этого была оценена реакция изолированных колец аорты на воздействие 5HT в присутствии и в отсутствие селективного блокатора K_{ATP} каналов глибенкламида или $VaCl_2$ – блокатора классических Kir2-каналов.

Установлено, что предварительная инкубация изолированных колец аорты с блокатором K_{ATP} каналов глибенкламидом в концентрации 3 мкМ в течение 30 мин не влияла на базальный тонус сосудов молодых (3 мес) и возрастных (18 мес) крыс самцов. Влияние глибенкламида на сократительную реакцию аорты на воздействие 5HT проявлялось в сдвиге зависимости «концентрация-эффект» вправо только в группе старых крыс (рис. 1). Глибенкламид не оказывал существенного влияния на 5HT-индуцированную сократительную реакцию колец аорты молодых самцов. Следует отметить, что сократительная реакция сосудов старых крыс на воздействие различных концентраций 5HT намного превышала ответ аорты молодых крыс, как в отсутствие, так и в присутствии глибенкламида (рис. 1).

В аорте старых крыс выявлено значительное снижение содержания мРНК порообразующей Kir6.2 и регуляторной Sur2 субъединиц K_{ATP} канала по сравнению с аналогичными показателями в сосудах молодых крыс (рис. 2).

Судя по результатам исследования, K_{ATP} каналы не принимают участия в регуляции сократительных ответов на серотонин у половозрелых крыс в возрасте 3 месяцев, но вносят существенный вклад в механизмы 5HT-индуцированного сокращения аорты возрастных (18 мес) крыс.

Следует отметить, что до сих пор нет полного представления о характере влияния гипертонии на экспрессию и функцию K_{ATP} -каналов, как и их роли в формировании гипертензивного состояния. В ряде исследований на моделях гипертонии показано, что функция канала K_{ATP} либо не изменена, либо, напротив, усилена. Так, в сосудах спонтанно гипертензивных (SHR)

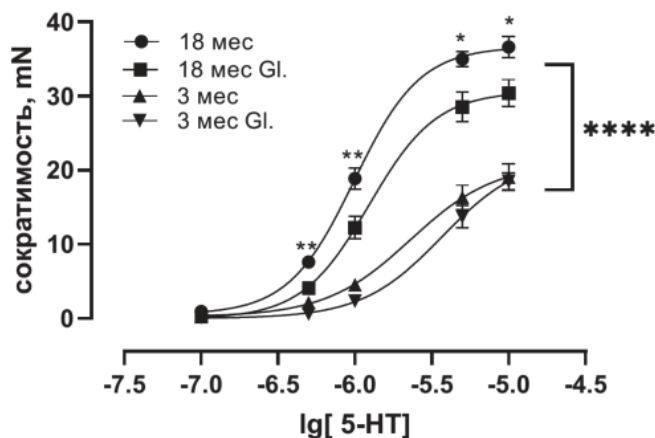


Рис. 1. Зависимости «доза-эффект» в ответ на возрастающие концентрации серотонина для аорты крыс в возрасте 3 и 18 мес в присутствии блокатора K_{ATP} глибенкламида (3 мкМ). * $p < 0,05$. ** $p < 0,05$ – сравнение зависимостей «концентрация-эффект» между группами крыс в возрасте 18 мес в присутствии и в отсутствие блокатора K_{ATP} . **** $p < 0,0001$ по сравнению с молодыми крысами.

Fig. 1. Dose-effect relationships in response to increasing serotonin concentrations for rat aorta at 3 and 18 months of age in the presence of the K_{ATP} blocker glibenclamide (3 μM). * $p < 0.05$. ** $p < 0.05$ – comparison of concentration-effect relationships between groups of rats at 18 months of age in the presence and absence of K_{ATP} blocker. **** $p < 0.0001$ compared with young rats.

Последовательности праймеров, используемых в работе

Primer sequences used in the study

Ген Gene	Прямой праймер Forward primer	Обратный праймер Reverse primer	Праймер с флуоресцентным зондом Primer with fluorescent probe
<i>Actb</i>	CTGACAGGATGCAGAAG-GAG	GATAGAGCCACCAATCCAC	FAM-CAAGATCATTGCTCCTCCT-GAGC-BHQ1
<i>Kir6.2</i> (<i>Kcnj11</i>)	CAATGTGCCCTGCGTCAC	GCCGAAACCAATGGTCA	FAM-CCACTCCTTTTCGTCTGCTTCC-BHQ1
<i>Sur2</i> (<i>Abcc9</i>)	CTCAATCGGTTTTCTGCTGA	GACAGGCAGAGCAGGGTA	FAM-CATCGACCAACATATCCCTC-CGACC-BHQ1
<i>Kir2.1</i> (<i>Kcnj2</i>)	GCTGCCTTCTCTTCTCCA	GATTGACTGGAATACCACCATG	FAM-CCAGACAACCATCGGCTATG-GTTTC-BHQ1
<i>Kir2.4</i> (<i>Kcnj14</i>)	CCGAAGTCACCTGGTGGAG	GTCAAACCAACATCCACATCC	FAM-CAGCCCCGTGTGACCCAG-BHQ1

крыс обнаружено значительное снижение содержания мРНК и белка для субъединиц канала – Kir6.1 и SUR2B, но при этом не отмечалось снижения токов ионов K_{ATP} -каналам [15]. Имеются данные и о снижении токов через K_{ATP} -каналы в артериях SHR крыс [16]. В литературе имеется ограниченная информация и о влиянии старения на экспрессию и функцию сосудистых K_{ATP} -каналов. Обнаружено, что в ГМК экспрессия субъединиц K_{ATP} Kir6.1 и рецептора сульфонилмочевины (SUR2) снижалась в большей степени у 49-недельных SHR крыс, чем у 16-недельных SHR. Кроме того, кольца аорты 49-недельных SHR показали более низкую реактивность по отношению к активатору K_{ATP} -каналов диазоксиду, чем 16-недельные SHR [17]. Это исследование предполагает, что с возрастом функциональная активность K_{ATP} -каналов значительно снижается при гипертонии и это, главным образом, обусловлено дополнительным возраст-ассоциированным подавлением экспрессии Kir6.1 и Sur2B субъединиц канала. Показано значительное снижение вызванной агонистами K_{ATP} -каналов величины релаксации аорты крыс с DOCA-солевой гипертонией и с гипертонией, индуцированной L-NAME, брыжеечных артерий мышей с эссенциальной гипертонией [18]. В артериях мышей с эссенциальной гипертонией снижены экспрессия Kir6.1 и Sur2B и токи по каналам K_{ATP} [19].

Таким образом, нами впервые установлено, что K_{ATP} каналы не принимают участия в регуляции сократительного ответов на воздействие серотонина у молодых половозрелых крыс, но вносят существенный вклад в механизмы 5HT-индуцированного сокращения аор-

ты возрастных (18 мес) крыс. С учетом полученных результатов и данных литературы логично предположить, что вызванное старением снижение функциональной активности и экспрессии Kir6.1 и SUR2 субъединиц K_{ATP} -каналов в сосудах приводит к подавлению токов K^+ по каналам и как следствие к усилению индуцированной вазоконстрикции. Вместе с тем, исходя из этого предположения, блокатор этих каналов глибенкламид не должен приводит к снижению вазоконстрикторной реакции на воздействие 5HT, которое было выявлено в наших экспериментах на изолированных фрагментах аорты старых самцов (рис. 1). Не исключено, что в старости в ГМК сосудов изменяются не только свойства, но и фармакология K_{ATP} -каналов, что может повлиять на их чувствительность к глибенкламиду и кардинально изменить его конечный эффект. Полученные данные косвенно свидетельствуют о причастности K_{ATP} каналов к формированию тонких механизмов развития гипертонии в старости, хотя пока нет четкого понимания, какие конкретные процессы лежат в их основе.

Сердце. Как показано на рис. 3, в процессе старения во всех отделах сердца крыс возрастает экспрессия генов порообразующей Kir6.2 и регуляторной Sur2 субъединиц K_{ATP} канала. Об этом свидетельствует увеличение уровня мРНК Kir6.2 в 1,8, 1,7 и 1,5 раз, а мРНК Sur2 – в 1,4, 1,4 и 1,9 раз соответственно в левом желудочке, левом и правом предсердиях по сравнению с аналогичными значениями у молодых животных.

Мы полагаем, что высокий уровень экспрессии генов порообразующей Kir6.2 и регуляторной Sur2 субъединиц K_{ATP} канала в стареющем сердце является показателем компенсаторно-адаптивных процессов, направленных на сохранение нормального функционирования кардиомиоцитов и защиту от возрастной гипертрофии миокарда.

Это предположение согласуется с данными литературы о кардиопротекторной роли K_{ATP} каналов. В экспериментах на трансгенных мышах, показано, что увеличение экспрессии SUR2A препятствует снижению физической выносливости и повышению восприимчивости сердца к метаболическому стрессу в старости [20]. Известно, что K_{ATP} -каналы в желудочке и предсердиях отвечают за важные функции, включая обеспечение устойчивости к физическим нагрузкам и стрессу [13, 21]. В основе кардиопротекторного действия желудочковых и предсердных K_{ATP} -каналов лежит защита кардиомиоцитов от перегрузки Ca^{2+} и сохранение функции митохондрий [13, 22]. Важная роль в регуляции K_{ATP} -каналов в кардиомиоцитах отводится сАМР-ЕРАС-опосредованной сигнализации, а также протеинкиназе С (PKC), которая совместно АМРК

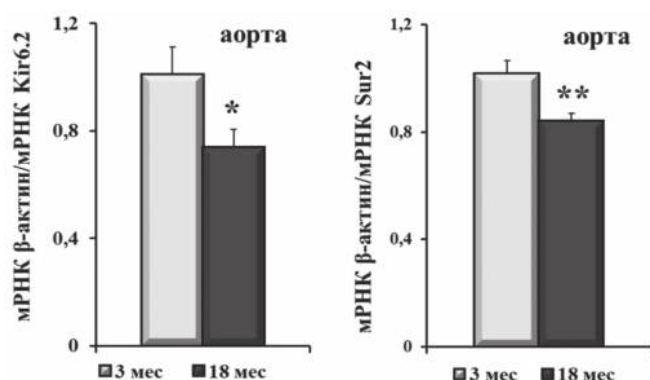


Рис. 2. Относительное содержание мРНК порообразующей Kir6.2 и регуляторной Sur2 субъединиц K_{ATP} канала в аорте крыс самцов в возрасте 3 и 18 мес * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ по сравнению с крысами в возрасте 3 мес.

Fig. 2. Relative mRNA content of the pore-forming Kir6.2 and regulatory Sur2 subunits of the K_{ATP} channel in the aorta of male rats at 3 and 18 months of age. * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ compared to rats at 3 months of age

(AMP activated protein kinase) и p38 активирует сердечные K_{ATP} -каналы [21, 23]. Активация K_{ATP} с помощью РКС или метаболических нарушений, таких как ишемия и/или гипоксия, приводит к сокращению продолжительности потенциала действия, уменьшению притока Ca^{2+} и снижению сократительной активности, что предотвращает перегрузку Ca^{2+} и сохранение уровня АТФ. В многочисленных экспериментах на разных видах животных также показано, что соединения, открывающие КАТР-каналы (КСО), оказывают выраженный антиишемический эффект [13, 20, 24].

Возрастные изменения функциональной активности и экспрессии калиевых каналов внутреннего выпрямления Kir2.1 и Kir2.4 в аорте и сердце крыс самцов.

Аорта. Установлено, что предварительная инкубация колец грудного отдела аорты с блокатором Kir2-каналов $BaCl_2$ (100 мкМ) приводила к статистически значимому повышению базального тонуса сосудов,

как молодых, так и пожилых крыс (рис. 4, А, Б). Однако у молодых крыс увеличение базального тонуса под влиянием $BaCl_2$ было значительно выше, чем у крыс в возрасте 18 месяцев. В присутствии блокатора Kir2 каналов происходило смещение кривой зависимости «концентрация-эффект» влево и увеличение площади под кривой сократительного ответа в большей степени у молодых, чем у старых крыс (рис. 2, А-В). Следовательно, с возрастом в аорте крыс происходит снижение функциональной активности Kir2-каналов, при этом уровень экспрессии генов Kir2.1 и Kir2.4 каналов не изменяется (рис. 2, Г).

Функциональная активность Kir2 – каналов регулируется целым комплексом сигнальных систем и различных ионных каналов [1, 10]. Вазоконстрикторы, действующие через GqPCR, активируют сигнальный каскад PLC β -DAG-РКС, что приводит к ингибированию Kir каналов ГМК сосудов, способствуя, таким

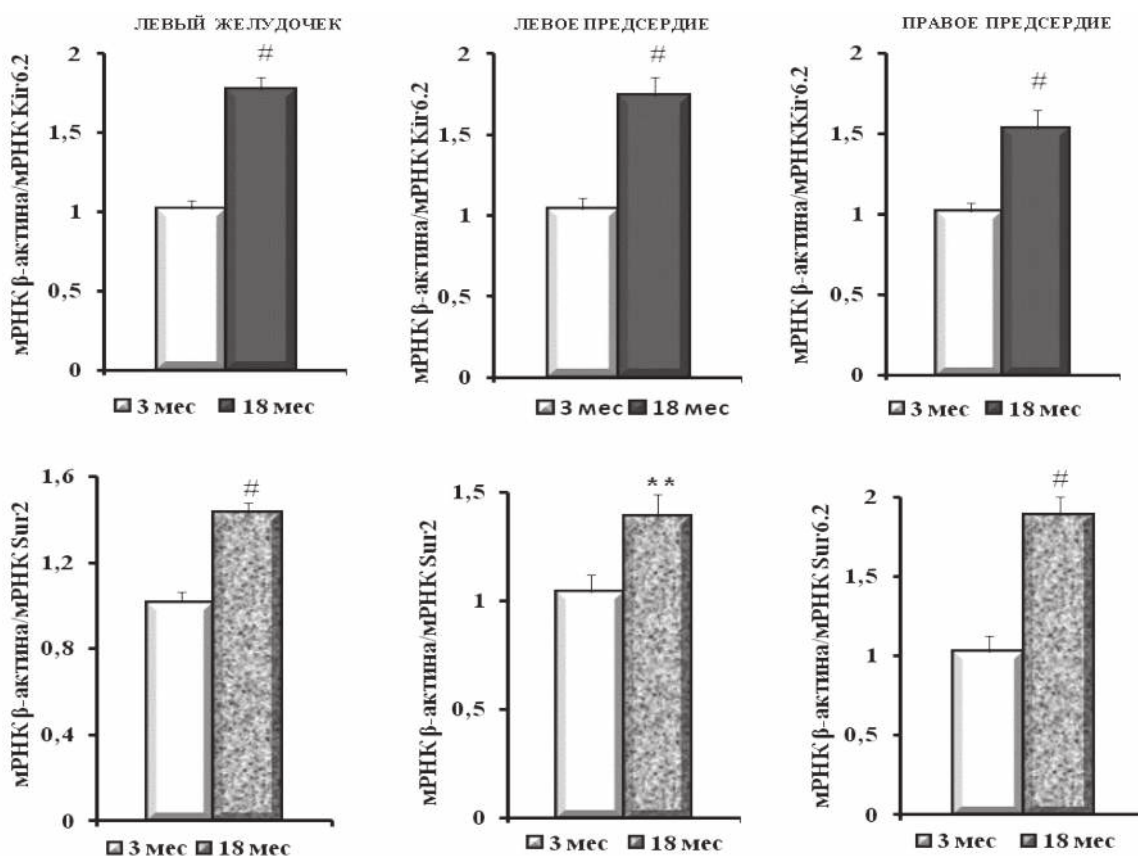


Рис. 3. Относительное содержание мРНК порообразующей Kir6.2 и регуляторной Sur2 субъединиц K_{ATP} канала в левом желудочке и предсердиях крыс самцов в возрасте 3 и 18 мес. ** $p < 0,01$; # $p < 0,0001$ по сравнению с крысами в возрасте 3 мес.

Fig. 3. Relative mRNA content of poroforming Kir6.2 and regulatory Sur2 subunits of the K_{ATP} channel in the left ventricle and atria of male rats at 3 and 18 months of age. ** $p < 0.01$; # $p < 0.0001$ compared with rats at 3 months of age.

образом, вазоконстрикторной деполяризации ГМК. Было показано, что Src-тирозинкиназы, независимо от PKC, также оказывают ингибирующее действие на Kir 2 каналы [1]. Полагают, что возрастная гиперчувствительность сосудов к серотонину обусловлена увеличением активности тирозиновых Src-киназ [25–27]. Ингибирование нативного тока I (K1) α1-адренорецепторами также осуществляется при участии Src-киназ [28]. С учетом данных литературы можно полагать, что снижение функциональной активности Kir 2 кана-

лов в старости обусловлено повышением активности Src киназ. Этот механизм может лежать в основе повышения чувствительности сосудов к вазоконстрикторным соединениям.

Вклад каналов внутреннего выпрямления Kir2- и K_{ATP} в 5HT1DR-индуцированную вазорелаксацию. Вазодилататоры, действующие через GsPCR/AC/cAMP/PKA или NO/sGC/cGMP/PKG сигнальные пути, вызывают активацию Kir каналов. Однако следует также отметить, что основным стимулом для активации Kir ка-

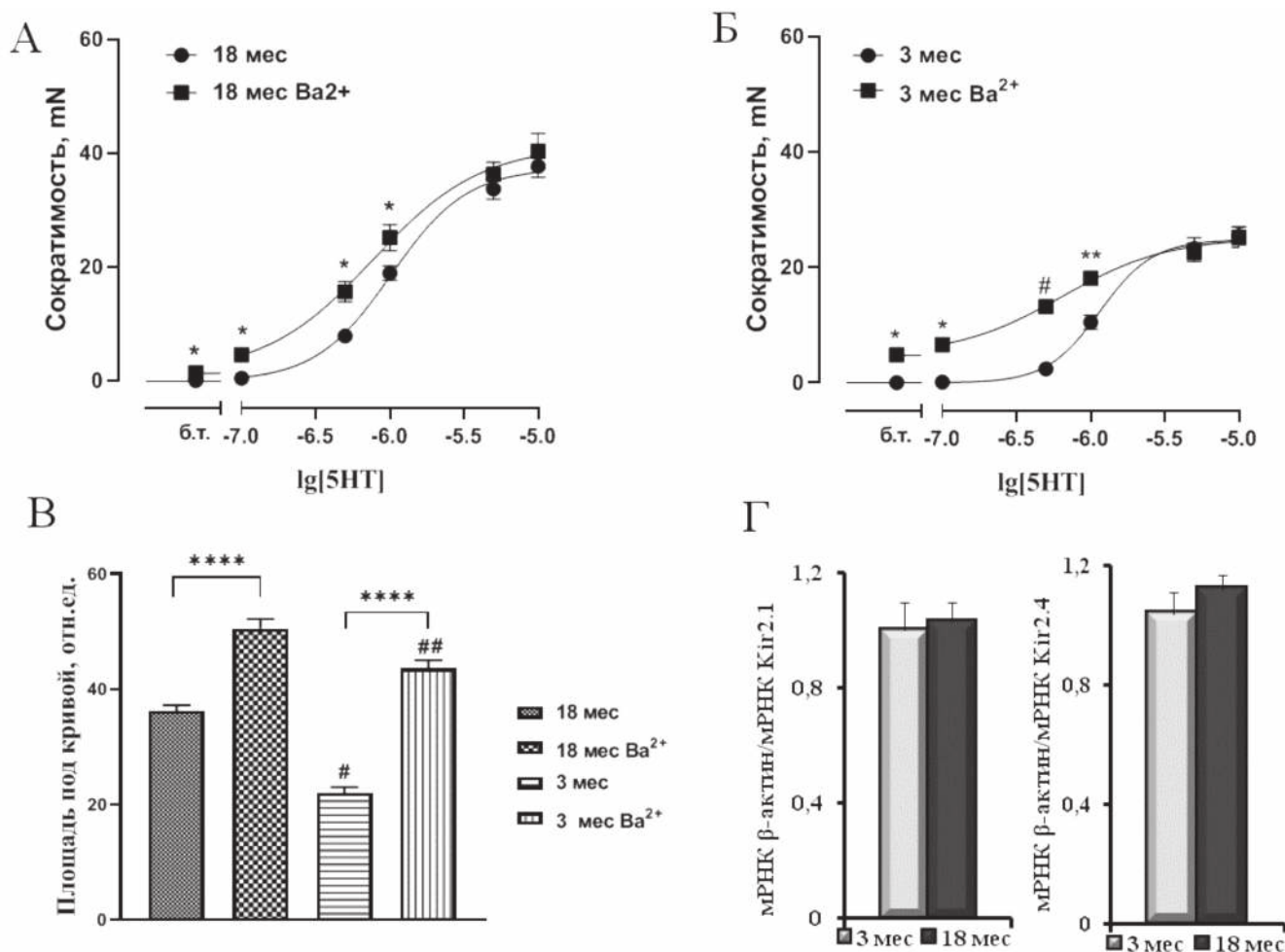


Рис. 4. Влияние блокатора Kir2 каналов BaCl₂ (100 мкМ) на базальный тонус, сократительные ответы аорты крыс разного возраста и уровень экспрессии генов Kir2.1 и Kir2.4. А, Б: зависимости «концентрация-эффект» на серотонин для аорты крыс в возрасте 18 и 3 мес в отсутствие (контроль) или в присутствии BaCl₂. * p < 0,05, ** p < 0,0025, # p < 0,0001 по сравнению с контролем. В: относительное изменение площади под кривой зависимости «концентрация-эффект». * p < 0,05, ** p < 0,0025, # p < 0,0001 по сравнению с крысами в возрасте 18 мес, ## p < 0,006 по сравнению с крысами 18 мес в присутствии бария, **** p < 0,0001 по сравнению с контролем. Г: возрастные изменения уровней экспрессии мРНК генов Kir2.1 и Kir2.4.

Fig. 4. Effect of Kir2 channel blocker BaCl₂ (100 μM) on basal tone, aortic contractile responses of rats of different ages and expression levels of Kir2.1 and Kir2.4 genes. A, B: concentration-effect relationships on serotonin for aorta of rats aged 18 and 3 months in absence (control) or in presence of BaCl₂. * p < 0.05, ** p < 0.0025, # p < 0.0001 versus control. B: relative change in area under the concentration-effect curve. * p < 0.05, ** p < 0.0025, # p < 0.0001 compared to rats aged 18 months, ## p < 0.006 compared to rats 18 months in the presence of barium, **** p < 0.0001 compared to control. Г: age-related changes in Kir2.1 and Kir2.4 gene mRNA expression levels.

налов в ГМК является гиперполяризация, вызванная активацией других K^+ -каналов или закрытием каналов, проводящих Na^+ , Ca^{2+} или Cl^- и/или увеличением внеклеточной концентрации K^+ [29–31].

Вазоконстрикторная реакция на воздействие 5НТ реализуется, главным образом, через рецепторы 5НТ2А-типа. Ранее нами было показано, что активация рецепторов 5НТ1D-типа приводит к релаксации предсокращенных норадреналином или эндотелином-1 сосудов [32]. В экспериментах на кольцах аорты молодых крыс было исследовано участие $Kir2$ - и K_{ATP} каналов в реализации релаксирующего действия 5НТ1D-рецепторов.

Установлено, что инкубация колец аорты молодых крыс-самцов с блокаторами калиевых каналов глибенкламидом или хлоридом бария не повлияла на силу сокращения в ответ на воздействие норадреналина в концентрации 10^{-7} М. После выхода кривой сократительного ответа на плато, на сосуды воздействовали агонистом 5НТ1DR – L-694.247. Добавление к предсокращенным сосудам L-694.247 приводило практически к полному их расслаблению (на 85 и 95%) (рис. 5). В присутствии блокатора КАТР глибенкламида величина релаксации изолированных колец аорты уменьшилась в 1,5 раза (55% вместо 85% в контроле, $p < 0.05$), а блокатора $Kir2$ -каналов $BaCl_2$ – в 4,5 раза (21% вместо 95% в контроле, $p < 0.0001$) (рис. 5). Полученные результаты свидетельствуют о большей вовлеченности $Kir2$ -каналов в механизм действия сосудорасширяющих средств по сравнению с K_{ATP} каналами в сосудах молодых крыс. Судя по представленным выше данным, в отличие от K_{ATP} каналов при старении модулирующая роль $Kir2$ -каналов в регуляции сократимости магистральных сосудов не изменяется. В дальнейшем важно выяснить, каким образом будет изменяться реакция старых сосудов на воздействие агониста 5НТ1D-рецепторов – L-694.247 в присутствии глибенкламида, что позволит получить дополнительное подтверждение причастности K_{ATP} каналов к механизмам формирования гиперреактивности магистральных сосудов к вазоконстрикторному действию серотонина в старости.

Сердце. В стареющем сердце крыс-самцов, в отличие от сосудов, выявлены значительные изменения на уровне экспрессии генов $Kir2.1$ и $Kir2.4$ каналов. Как показано на рис. 6, по сравнению с молодыми животными в старости увеличивается содержание мРНК $Kir2.1$ и мРНК $Kir2.4$ каналов в 1,8 и в 5,7 раза в левом желудочке, и в 1,4 и 1,6 раза – в левом предсердии. В процессе старения в правом предсердии уровень мРНК $Kir2.1$ остается неизменным, но наблюда-

ется более чем двукратное увеличение экспрессии гена $Kir2.4$ каналов (рис. 6). Обращает на себя внимание впервые установленный феномен гиперэкспрессии $Kir2.4$ каналов в левом желудочке и предсердиях пожилых крыс. Каков биологический смысл столь высокого роста уровня экспрессии генов $Kir2.1$ и особенно $Kir2.4$ в стареющих сердцах, пока непонятно.

Калиевые каналы внутреннего выпрямления $Kir2$ являются важными участниками, опосредующими процессы реполяризации мембран и поддержания стабильности потенциала покоя в кардиомиоцитах. Данные процессы представляют собой важнейшую часть сбалансированной сердечной возбудимости. То есть основной ролью Kir каналов является восстановление мембранного потенциала покоя при гиперполяризации за счёт проведения слабого тока калия внутрь клетки. Любые изменения функций этих каналов или мутации «с приобретением или потерей функции», в частности в гене $KCNJ2$, кодирующем $Kir2.1$, вызывают синдромы внезапной сердечной смерти. Считается, что потеря или изменение калиевого тока внутреннего выпрямления по $Kir2$ каналам (Inward rectifier potassium current,

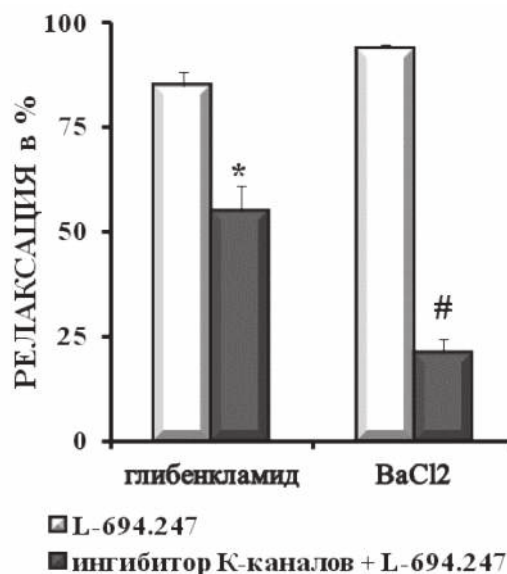


Рис. 5. Величина релаксации предсокращенных норадреналином (10^{-7} М) колец аорты молодых крыс на воздействие агониста 5НТ1D-рецепторов L-694.247 ($2 \cdot 10^{-5}$ М) в отсутствие и в присутствии блокаторов K_{ATP} и $Kir2$ каналов соответственно глибенкламида ($3 \cdot 10^{-6}$ М) и $BaCl_2$ (10^{-4} М). * $p < 0,05$ и # $p < 0,0001$ по сравнению с контролем.

Fig. 5. Magnitude of relaxation of preconditioned norepinephrine (10^{-7} M) aortic rings in young rats by the 5НТ1D-receptor agonist L-694.247 ($2 \cdot 10^{-5}$ M) in the absence and in the presence of KATP and $Kir2$ channel blockers glibenclamide ($3 \cdot 10^{-6}$ M) and $BaCl_2$ (10^{-4} M) respectively. * $p < 0.05$ and # $p < 0.0001$ compared to control.

IK1) является основным фактором, способствующим аритмогенезу у людей с сердечной недостаточностью [33, 34]. Экспериментально было показано, что усиление функции гена *KCNJ2* (*Kir2.1*) резко сокращает потенциал действия и, следовательно, предсердный и желудочковый рефрактерный период. Компьютерное моделирование продемонстрировало, что усиление функции *Kir2.1* канала обеспечивает инициацию и стабилизацию «роторов» фибрилляции [35].

Показано, что при дилатационной кардиомиопатии в желудочках уровни экспрессии значительно повышались для *Kir2.1* и *Kir2.3*, в меньшей степени – для *Kir2.4* каналов, но подавлялись для *Kir2.2* [10]. В модельных экспериментах на ооцитах *Xenopus* было показано, что *Kir2.4* ассоциирован с *Kir2.1* каналом. Гетеромерные каналы *Kir2.1-Kir2.4* проводят устойчивые токи внутреннего выпрямления. Они обладают повышенной чувствительностью к блокирующему действию Ba^{2+} и отлича-

ются свойствами от гомомерных каналов [36]. Однако до сих пор не оценено физиологического значения гетеромультимеризации *Kir2.4-Kir2.1* каналов.

С учетом данных литературы, можно предположить, что высокий уровень экспрессии генов *Kir2.4* и *Kir2.1* каналов в сердце возрастных крыс может негативно повлиять на калиевый ток внутреннего выпрямления I(K1), инициировать нарушения сократительной функции миокарда и способствовать развитию аритмий в старости.

Заключение

Таким образом, у крыс в возрасте 18 мес в аорте снижается функциональная активность *Kir2.1* и *Kir2.4* каналов, в то время как уровень экспрессии этих каналов остается неизменным. Предположено, что снижение функциональной активности *Kir2* каналов является ранним проявлением старения сосу-

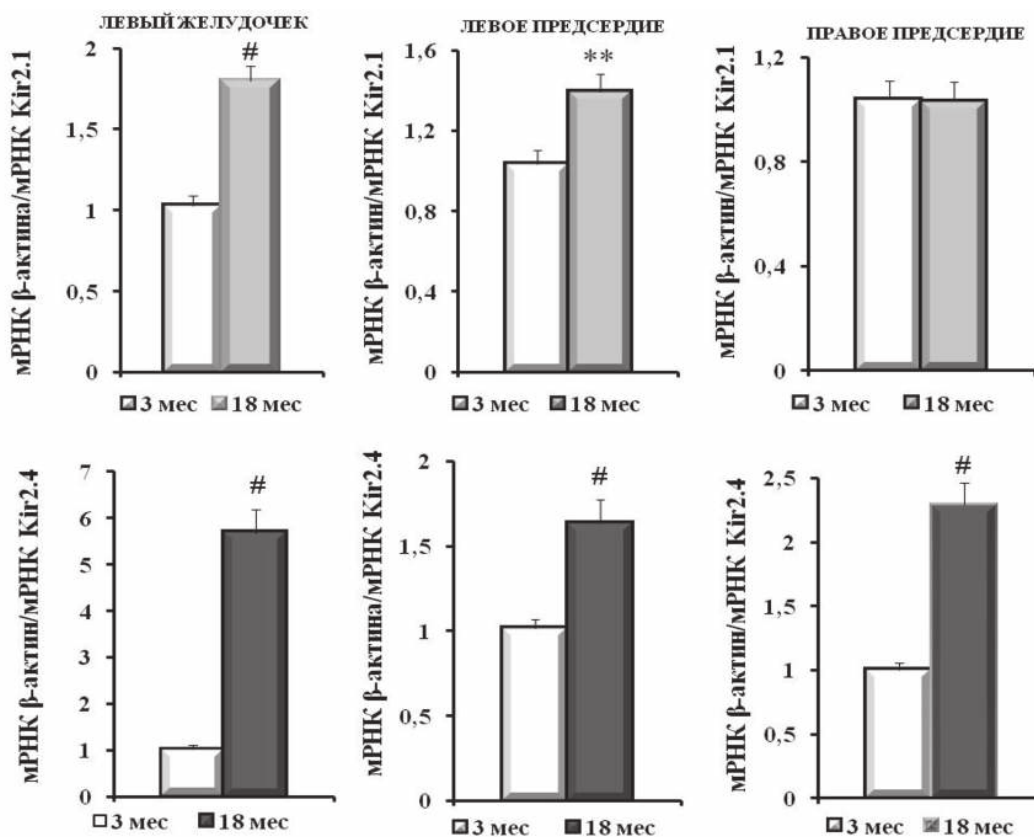


Рис. 6. Изменения уровня мРНК *Kir2.1* и *Kir2.4* каналов в левом желудочке и предсердиях сердца крыс самцов в возрасте 3 и 18 мес. ** $p < 0,01$; # $p < 0,0001$ по сравнению с крысами в возрасте 3 мес.

Fig. 6. Changes in *Kir2.1* and *Kir2.4* channel mRNA levels in the left ventricle and atria of male rats heart at 3 and 18 months of age. ** $p < 0.01$; # $p < 0.0001$ compared with rats at 3 months of age.

References

дов, которое может усугубляться по мере увеличения продолжительности жизни и способствовать в дальнейшем развитию гипертензии. В стареющих сердцах, напротив, выявлен высокий уровень экспрессии генов *Kir2.1* и *Kir2.4* каналов. Гиперэкспрессия *Kir2.4* и *Kir2.1* каналов может инициировать нарушения сократительной функции миокарда и способствовать развитию аритмий в старости. Впервые установлено, что K_{ATP} каналы не принимают участия в регуляции сократительных ответов аорты молодых крыс (3 мес), но вносят существенный вклад в механизм развития гиперчувствительности старых сосудов по отношению к вазоконстрикторному действию серотонина. Предполагается, что повышение экспрессии генов порообразующей *Kir6.2* и регуляторной *Sur2* субъединиц K_{ATP} канала в сердце возрастных крыс является компенсаторно-адаптивным механизмом, направленным на повышение устойчивости миокарда к гипоксии и стрессу. Полученные результаты свидетельствуют о сложных процессах изменения функциональной активности и экспрессии калиевых каналов внутреннего выпрямления, происходящих в процессе старения сосудов и миокарда, которые могут быть проявлением, как защитных механизмов, так и выступать в качестве факторов риска развития возрастной сердечно-сосудистой патологии.

Литература

(п.п. 1; 3-13; 15-24; 26-31; 33-36 см. References)

2. Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф., Семенова Н.П., Крыжановский С.А. Половые различия возрастных изменений экспрессии рианодинных RYR2 и инозитол-1,4,5-трифосфатных IP3R1,2,3 рецепторов и их модуляторов CAM и EPAC в аорте и миокарде крыс. *Биологические мембраны*. 2020; 37(6): 453-65. doi: 10.31857/S0233475520050084
14. Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф., Цорин И.Б., Вититнова М.Б., Крыжановский С.А. Влияние социально-изоляционного стресса на возрастные изменения функциональной активности и экспрессии рецепторов эндогенных вазоконстрикторов в аорте крысы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020; 170(10): 409-14 doi: 10.47056/0365-9615-2020-170-10-409-414
25. Кожевникова Л.М., Московцев А.А., Меситов М.В. Влияние ингибиторов Rho- и тирозиновой C-Src-киназ на серотонининдуцированное сокращение аорты и брызжеечной артерии крысы. *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2014; 5: 500-9. doi: 10.7868/S0002332914050063
32. Кожевникова Л.М., Давыдова А.Г., Авдонин П.В. Демполяризация плазматической мембраны и активация рецепторов эндогенных вазоконстрикторов как возможные механизмы усиления вазоконстрикторного ответа на действие серотонина при травматическом шоке у крыс *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2009; (3): 343-57.

1. Tykocki N.R., Boerman E.M., Jackson W.F. Smooth muscle ion channels and regulation of vascular tone in resistance arteries and arterioles. *Compr Physiol*. 2017; 7(2): 485–581. doi: 10.1002/cphy.c160011
2. Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F., Semenova N.P., Kryzhanovskii S.A. Sex differences in age-related changes in the expression of ryanodine receptors RyR2 and Inositol-1,4,5-Trisphosphate receptors IP3R1,2,3 and of their modulators CaM and epac in rat aorta and myocardium. *Biologicheskiye membrany*. 2020; 37(6): 453–65. (in Russian). doi: 10.31857/S0233475520050084
3. Harraz O.F., Jensen L.J. Vascular calcium signalling and ageing. *J Physiol*. 2021; 599(24): 5361–77. doi:10.1113/JP280950
4. Lakatta E.G. So! What's aging? Is cardiovascular aging a disease? *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2015; 83: 1–13. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.04.005
5. Vatner S.F., Zhang J., Vyzas C., Mishra K., Graham R.M., Vatner D.E. Vascular stiffness in aging and disease. *Front. Physiol*. 2021; 12: 762437. doi: 10.3389/fphys.2021.762437
6. De Munck D.G., Leloup A.J.A., De Meyer G.R.Y., Martinet W., Franssen P. Defective autophagy in vascular smooth muscle cells increases passive stiffness of the mouse aortic vessel wall. *Pflugers Arch*. 2020; 472(8): 1031–40. doi: 10.1007/s00424-020-02408-y
7. Donato A.J., Machin D.R., Lesniewski L.A. Mechanisms of dysfunction in the aging vasculature and role in age-related disease. *Circ Res*. 2018; 123(7): 825–48. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312563
8. Mazzaro L., Almasi S.J., Shandas R., Seals D.R., Gates P.E. Aortic input impedance increases with age in healthy men and women. *Hypertension*. 2005; 45(6): 1101–06. doi: 10.1161/01.HYP.0000164579.73656.c4
9. Lacolley P., Regnault V., Avolio A.P. Smooth muscle cell and arterial aging: basic and clinical aspects. *Cardiovas. Res*. 2018; 114(4): 513–28. doi: 10.1093/cvr/cvy009.
10. Hibino H., Inanobe A., Furutani K., Murakami S., Findlay I., Kurachi Y. Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function, and physiological roles. *Physiol Rev*. 2010; 90(1): 291–366. doi: 10.1152/physrev.00021.2009
11. Guo Y., Waldron G.J., Murrell-Lagnado R. A role for the middle C terminus of G-protein-activated inward rectifier potassium channels in regulating gating. *J Biol Chem*. 2002; 277(50): 48289–94. doi: 10.1074/jbc.M207987200
12. Schram G., Melnyk P., Pourrier M., Wang Z., Nattel S. Kir2.4 and Kir2.1 K(+) channel subunits co-assemble: a potential new contributor to inward rectifier current heterogeneity. *J Physiol*. 2002; 544(2): 337–49. doi: 10.1113/jphysiol.2002.026047
13. Foster M.N., Coetzee W.A. KATP channels in the cardiovascular system. *Physiol Rev*. 2016; 96(1): 177–252. doi: 10.1152/physrev.00003.2015
14. Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F., Tsorin I.B., Vititnova M.B., Kryzhanovskii S.A. Influence of Social Isolation Stress on age-related changes in functional activity and expression of receptors of endogenous vasoconstrictors in rat aorta. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny*. 2020; 170(10): 409–14. (in Russian). doi: 10.47056/0365-9615-2020-170-10-409-414
15. Blanco-Rivero J., Gamallo C., Aras-López R., Cobeño L., Cogolludo A., Pérez-Vizcaino F., et al. Decreased expression of aortic KIR6.1 and SUR2B in hypertension does not correlate with changes in the functional role of K(ATP) channels. *Eur J Pharmacol*. 2008; 587(1–3): 204–8. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.03.039

16. Ohya Y., Setoguchi M., Fujii K., Nagao T., Abe I., Fujishima M. Impaired action of levromakalim on ATP-sensitive K⁺ channels in mesenteric artery cells from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1996; 27(6): 1234–9. doi: 10.1161/01.hyp.27.6.1234
17. Liu X., Duan P., Hu X., Li R., Zhu Q. Altered KATP channel subunits expression and vascular reactivity in spontaneously hypertensive rats with age. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2016; 68(2): 143–9. doi: 10.1097/FJC.0000000000000394.
18. Ghosh M., Hanna S.T., Wang R., McNeill J.R. Altered vascular reactivity and KATP channel currents in vascular smooth muscle cells from deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004; 44(5): 525–31. doi: 10.1097/00005344-200411000-00003
19. Tajada S., Ciudad P., Moreno-Domínguez A., Pérez-García M.T., López-López J.R. High blood pressure associates with the remodelling of inward rectifier K⁺ channels in mice mesenteric vascular smooth muscle cells. *J Physiol*. 2012; 590(23): 6075–91. doi: 10.1113/jphysiol.2012.236190
20. Sudhir R., Sukhodub A., Du Q., Jovanovic ' S., Jovanovic ' A. Ageing-induced decline in physical endurance in mice is associated with decrease in cardiac SUR2A and increase in cardiac susceptibility to metabolic stress: therapeutic prospects for up-regulation of SUR2A. *Biogerontology*. 2011; 12: 147–55. doi 10.1007/s10522-010-9306-3
21. Mahdi H., Jovanović A. SUR2A as a base for cardioprotective therapeutic strategies. *Molecular Biology Reports*. 2022; 49(7): 6717–23. doi: 10.1007/s11033-022-07281-9
22. Tinker A., Aziz Q., Thomas A. The role of ATP-sensitive potassium channels in cellular function and protection in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol*. 2014; 171(1): 12–23. doi: 10.1111/bph.12407
23. van Bever L., Poitry S., Faure C., Norman R.I., Roatti A., Baertschi A.J. Pore loop-mutated rat KIR6.1 and KIR6.2 suppress KATP current in rat cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 287(2): H850–59. doi: 10.1152/ajpheart.00054.2004
24. Raveaud S., Verdetti J., Faury G. Nicorandil protects ATP-sensitive potassium channels against oxidation-induced dysfunction in cardiomyocytes of aging rats. *Biogerontology*. 2009; 10: 537–47. doi 10.1007/s10522-008-9196-9
25. Kozhevnikova L.M., Moskovtsev A.A., Mesitov M.V. The effects of the inhibitors of Rho- and tyrosine c-src-kinases on serotonin-induced constrictions of the aorta and mesenteric artery in rats. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny*. 2014; 5: 500–9. (in Russian). doi: 10.7868/S0002332914050063
26. Matsumoto T., Kobayashi T., Ishida K., Taguchi K., Kamata K. Enhancement of mesenteric artery contraction to 5-HT depends on Rho kinase and Src kinase pathways in the ob/ob mouse model of type 2 diabetes. *British Journal of Pharmacology*. 2010; 160: 1092–104. doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00753.x
27. Chang F., Flavahan S., Flavahan N.A. Impaired activity of adherens junctions contributes to endothelial dilator dysfunction in ageing rat arteries. *J Physiol*. 2017; 595(15): 5143–58. doi: 10.1113/JP274189
28. Zitron E., Günth M., Scherer D., Kiesecker C., Kulzer M., Bloehs R., et al. Kir2.x inward rectifier potassium channels are differentially regulated by adrenergic alpha1A receptors. *J Mol Cell Cardiol*. 2008; 44(1): 84–94. doi: 10.1016/j.yjmcc.2007.10.008
29. Smith P.D., Brett S.E., Luykenaar K.D., Sandow S.L., Marrelli S.P., Vigmond E.J., et al. KIR channels function as electrical amplifiers in rat vascular smooth muscle. *J Physiol*. 2008; 586(4): 1147–60. doi: 10.1113/jphysiol.2007.145474
30. Longden T.A., Nelson M.T. Vascular inward rectifier K⁺ channels as external K⁺ sensors in the control of cerebral blood flow. *Microcirculation*. 2015; 22(3): 183–96. doi: 10.1111/micc.12190
31. Sonkusare S.K., Dalsgaard T., Bonev A.D., Nelson M.T. Inward rectifier potassium (Kir2.1) channels as end-stage boosters of endothelium-dependent vasodilators. *J Physiol*. 2016; 594(12): 3271–85. doi: 10.1113/JP271652
32. Kozhevnikova L.M., Avdonin P.V., Davydova A.G. Plasma Membrane depolarization and activation of receptors for endogenous vasoconstrictors as possible mechanisms of potentiation of vasoconstrictive response to serotonin in traumatic shock in rats. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya biologicheskaya*. 2009; 3: 343–57. (in Russian)
33. Dharmoon A.S., Pandit S.V., Sarmast F., Parisian K.R., Gupta P., Li Y., et al. Unique Kir2.x properties determine regional and species differences in the cardiac inward rectifier K⁺ current. *Circ Res*. 2004; 94(10): 1332–39. doi: 10.1161/01.RES.0000128408.66946.67
34. Reilly L., Eckhardt L.L. Cardiac potassium inward rectifier Kir2: Review of structure, regulation, pharmacology, and arrhythmogenesis. *Heart Rhythm*. 2021; 18(8): 1423–34. doi: 10.1016/j.hrthm.2021.04.008
35. Noujaim S.F., Pandit S.V., Berenfeld O., Vikstrom K., Cerrone M., Mironov S., et al. Up-regulation of the inward rectifier K⁺ current (I_{K1}) in the mouse heart accelerates and stabilizes rotors. *J Physiol*. 2007; 578(Pt1): 315–26. doi: 10.1113/jphysiol.2006.121475
36. Schram G., Melnyk P., Pourrier M., Wang Z., Nattel S. Kir2.4 and Kir2.1 K(+) channel subunits co-assemble: a potential new contributor to inward rectifier current heterogeneity. *J Physiol*. 2002; 544(2): 337–49. doi: 10.1113/jphysiol.2002.026047

Сведения об авторах:

Кожевникова Любовь Михайловна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр., лаб. хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ НИИОПП;

Суханова Ирина Федоровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., лаб. хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ НИИОПП.