

Оригинальные статьи

© Суханова И.Ф., Кожевникова Л.М., 2024
УДК 616-092.9

Суханова И.Ф., Кожевникова Л.М.

Половой диморфизм возрастных изменений функциональной активности и экспрессии классических калиевых каналов внутреннего выпрямления Kir2 в аорте и сердце крыс

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

Актуальность. Биологическое старение признано наиболее значимым фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, которые остаются ведущей причиной смертности в мире. Исследования механизмов старения приобретают особую актуальность, поскольку с каждым годом увеличивается число людей преклонного возраста. До сих пор существуют значительные пробелы в понимании процессов, лежащих в основе старения сосудов и сердца, и практически отсутствуют данные о влиянии половой принадлежности на развитие возраст-ассоциированной патологии. В последние годы активно проводятся исследования роли ионных каналов в развитии различных заболеваний. Значительный прогресс достигнут в понимании вклада классических калиевых каналов внутреннего выпрямления Kir2.x в регуляцию сократимости сосудов и миокарда в норме, но нет четких представлений об их причастности к развитию возрастной патологии. Отсутствуют данные о половых особенностях возрастных изменений свойств этих каналов. **Цель исследования** – оценка влияния возраста и пола животных на функциональную активность и экспрессию Kir2.1 и Kir2.4 каналов в аорте и сердце крыс.

Методика. Исследования проводили на молодых (3 мес) и возрастных (18 мес) крысах самцах и самках породы Вистар. Силу сокращения изолированных фрагментов грудного отдела аорты измеряли в изометрическом режиме. Экспрессию генов *Kcnj2* и *Kcnj14* соответственно Kir2.1 и Kir2.4 каналов в аорте и в различных отделах сердца оценивали с помощью количественной полимеразной цепной реакции.

Результаты. Инкубация сосудов с блокатором Kir2.x каналов $BaCl_2$ (100 мкМ) приводила к усилению сократительной реакции аорты молодых крыс обоего пола в ответ на воздействие возрастающих концентраций серотонина (10^{-7} - 10^{-5} М). Установлено, что в процессе старения у крыс самцов уменьшается вклад Kir2 каналов в формирование базального тонуса аорты, но сохраняется их причастность к реализации механизма отрицательной обратной связи, активируемого воздействием вазоконстрикторов. В отличие от самцов, в аорте самок Kir2 каналы не участвуют в регуляции базального тонуса. В процессе старения у самок утрачивается вовлеченность Kir2 каналов в отрицательную регуляцию сократительных ответов аорты. В аорте старых самцов уровень экспрессии генов *Kcnj2* и *Kcnj14* оставался неизменным, в то время как у самок наблюдалось двукратное снижение содержания мРНК каналов Kir 2.4. Установлено, что по сравнению с самками сердце самцов наиболее подвержено возрастным изменениям на уровне экспрессии генов *Kcnj2* и *Kcnj14* каналов Kir2.1 и Kir2.4. **Заключение.** Полученные данные позволяют предположить, что у особей женского пола в преклонном возрасте большая степень риска развития артериальной гипертензии, в то время как у мужского – патологии сердца. Выявленные половые различия следует учитывать при использовании модуляторов Kir2 каналов в качестве терапевтических средств коррекции сердечно-сосудистых заболеваний в старости.

Ключевые слова: старение; половой диморфизм; сократимость; аорта; миокард; калиевые каналы Kir2; экспрессия

Для цитирования: Суханова И.Ф., Кожевникова Л.М. Половой диморфизм возрастных изменений функциональной активности и экспрессии классических калиевых каналов внутреннего выпрямления Kir2 в аорте и сердце крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024; 68(2): 4-12.

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.02.4-12

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Кожевникова Л.М.; сбор и обработка материала, написание текста – Суханова И.Ф.; редактирование текста – Кожевникова Л.М. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

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 04.04.2024

Принята к печати 25.04.2024

Опубликована 14.06.2024

Sukhanova I.F., Kozhevnikova L.M.

Sexual dimorphism of age-related changes in the functional activity and expression of classical inward rectifying potassium channels Kir2 in the aorta and heart of rats

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

Background. Biological aging is recognized as the most significant risk factor for the development of cardiovascular diseases, which remain the leading cause of death in the world. Research into the mechanisms of aging is becoming particularly relevant as the number of elderly people increases every year. There are still significant gaps in understanding the processes underlying the aging of blood vessels and the heart, and there is virtually no data on the influence of gender on the development of age-associated pathology. In recent years, active research has been carried out on the role of ion channels in the development of various diseases. Significant progress has been made in understanding the contribution of the classical inward rectifying potassium channels Kir2.x to the regulation of vascular and myocardial contractility under normal conditions, but there is no clear understanding of their involvement in the development of age-related pathology. There is no data on gender-related changes in the properties of these channels. **The aim of the study** is to assess the effect of age and sex of animals on the functional activity and expression of Kir2.1 and Kir2.4 channels in the aorta and heart of rats.

Methods. The studies were carried out on young (3 months) and aged (18 months) male and female Wistar rats. The force of contraction of isolated fragments of the thoracic aorta was measured in isometric mode. The expression of the *Kcnj2* and *Kcnj14* genes, respectively, Kir2.1 and Kir2.4 channels in the aorta and in various parts of the heart was assessed using quantitative polymerase chain reaction.

Results. Incubation of vessels with the Kir2.x channel blocker BaCl₂ (100 μM) led to an increase in the contractile response of the aorta of young rats of both sexes in response to exposure to increasing concentrations of serotonin (10⁻⁷ – 10⁻⁵ M). It has been established that during the aging process in male rats, the contribution of Kir2 channels to the formation of the basal tone of the aorta decreases, but their involvement in the implementation of the negative feedback mechanism activated by the influence of vasoconstrictors remains. Unlike males, in the female aorta Kir2 channels are not involved in the regulation of basal tone. During the aging process in females, the involvement of Kir2 channels in the negative regulation of aortic contractile responses is lost. In the aorta of old males, the level of expression of the *Kcnj2* and *Kcnj14* genes remained unchanged, while in females a twofold decrease in the mRNA content of Kir 2.4 channels was observed. It was found that, compared with females, the heart of males is most susceptible to age-related changes at the level of expression of the *Kcnj2* and *Kcnj14* genes of the Kir2.1 and Kir2.4 channels.

Conclusion. The data obtained suggest that females in old age have a higher risk of developing arterial hypertension, while males have a higher risk of developing heart disease. The identified sex differences should be taken into account when using Kir2 channel modulators as therapeutic agents for the correction of cardiovascular diseases in old age.

Keywords: aging; sexual dimorphism; contractility; aorta; myocardium; Kir2 potassium channels; expression

For citation: Sukhanova I.F., Kozhevnikova L.M. Sexual dimorphism of age-related changes in the functional activity and expression of classical inward rectifying potassium channels Kir2 in the aorta and heart of rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological physiology and experimental therapy, Russian Journal)* 2024; 68(2): 4-12. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2024.02.4-12

Author's contribution: concept and design of the study – Kozhevnikova L.M.; collection and processing of material, writing the text – Sukhanova I.F.; editing the text – Kozhevnikova L.M. 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, Baltiyskaya Str. 8, Moscow, Russian Federation, e-mail: lubovmih@yandex.ru

Information about the authors:

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

Sukhanova I.F., <https://orcid.org/0000-0002-1220-2596>

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

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

Received 04.04.2024

Accepted 25.04.2024

Published 14.06.2024

Введение

Согласно статистике, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний занимает лидирующую позицию на планете, а частота возникновения данных заболеваний увеличивается с возрастом [1, 2]. В процессе старения повышается жесткость сосудов, что приводит к недостаточной перфузии органов и, как следствие, к нарушению их функции [3-5]. С увеличением жесткости возрастает вклад магистральных сосудов в регуляцию артериального давления. Тонус сосудов и сократительная функция сердечной мышцы зависят от мембранного потенциала гладкомышечных клеток и кардиомиоцитов. Большое значение в поддержании мембранного потенциала электровозбудимых клеток имеют калиевые каналы внутреннего выпрямления (Kir каналы) [6, 7]. При мембранном потенциале более отрицательном, чем равновесный потенциал для ионов калия, Kir каналы поддерживают ток K^+ внутрь клетки, обеспечивая возврат мембранного потенциала к потенциалу покоя. Каналы семейства Kir2.x функционируют в виде тетрамера порообразующих α -субъединиц, являются конститутивно активными и демонстрируют высокую способность к входящему внутреннему выпрямлению [8, 9].

В гладкомышечных и эндотелиальных клетках сосудов преимущественно экспрессируются Kir 2.1 и Kir 2.4 каналы и их вклад в поддержание миогенного тонуса во многом зависит от типа сосудов [10-13]. В сердце Kir2.x каналы экспрессируются в миоцитах желудочков и предсердий, включая волокна Пуркинье, и играют определяющую роль в регуляции сократимости миокарда [14-17]. Любые нарушения функции и аномалии генов Kir2.x каналов приводят к серьезным изменениям в работе сердца, вплоть до развития жизнеугрожающих аритмий, сопряженных с высоким риском летального исхода [18]. Вместе с тем до сих пор не ясно, как изменяются свойства Kir 2.1 и Kir 2.4 каналов в стареющих сосудах и сердце и нет четких представлений об их причастности к развитию возраст-ассоциированных сердечно-сосудистых заболеваний. В частности, не изучена роль этих каналов в механизмах развития возрастной гиперчувствительности сосудов к действию эндогенных вазоконстрикторов. **Цель работы** – исследование влияния возраста и пола на функциональную активность и экспрессию Kir 2.1, Kir 2.4 каналов в аорте и сердце крыс.

Методика

Эксперименты выполнены на крысах породы Вистар. Содержание лабораторных животных и экс-

перименты проводили в соответствии с национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и рекомендациями Этического комитета Института общей патологии и патофизиологии, протокол № 1а от 2 октября 2020 г.

Физиологические методы исследования. Животные были рандомизированы на группы: 1) молодые самцы 3 мес, $n=14$; 2) старые самцы 18 мес, $n=14$; 3) молодые самки 3 мес, $n=12$; 4) старые самки 18 мес, $n=12$. Крыс после анестезии 25% раствором уретана (4 мл/кг) декапитировали, извлекали грудной отдел аорты и сердце. Аорту помещали в раствор Кребса-Хенселейта, охлажденный до $+4^{\circ}C$, нарезали на кольца шириной 1,5-2,2 мм. Силу сокращения сосудов измеряли в изометрическом режиме на проволочном четырехканальном миографе (DanishMyo Technology, модель Multi Myograph System – 620M) как описано ранее [19]. После процедуры растяжения и последующего периода стабилизации в течение 40 мин жизнеспособность сосудов проверяли воздействием 0,1 мкМ норадrenalина – агониста адренорецепторов и 10 мкМ карбахола – агониста мускариновых рецепторов (Sigma, США). В экспериментах на подготовленных изолированных сосудах использовали агонист 5HT₂ рецепторов серотонина и селективный блокатор Kir2.x каналов $BaCl_2$ (Sigma, США).

Молекулярно-биологические методы исследования.
Выделение РНК. Образцы тканей предсердий, левого желудочка и аорты помещали в раствор RNAlater (Ambion, США) и хранили до выделения РНК при температуре $-20^{\circ}C$. 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 на спектрофотометре NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора Revert Aid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США) в соответствии с инструкцией производителя, используя случайные гексамерные праймеры.

Количественную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с использованием набора qPCRmix-HS («Евроген», Россия) согласно инструкции производителя праймеров. Праймеры для реакции были подобраны, синтезированы и валидированы ООО «ДНК-Синтез» (Россия) (см. табл.). ПЦР проводили в амплификаторе CFX96 Cycloer-RealTime PCR Detec-

tion System (BioRad Laboratories, Inc., Hercules, США). Для нормализации уровней экспрессии генов использовали β -актин. Различия в экспрессии целевого гена оценивали по изменению соотношения уровней мРНК гена/мРНК β -актина. Результаты обрабатывали в Microsoft Excel с использованием алгоритма $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism 8. 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 достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

В работе оценивали влияние блокатора Kir2-каналов $BaCl_2$ на сократимость колец аорты под действием возрастающих концентраций серотонина (5HT) молодых и старых крыс обоего пола. Причастность Kir2-каналов к развитию гиперчувствительности сосудов старых животных к действию 5HT ранее не изучалась. Как показано на рисунке 1 А, Б сосуды старых крыс самцов более чувствительны к вазоконстрикторному действию серотонина. Установлено, что предварительная инкубация колец грудного отдела аорты с $BaCl_2$ (100 мкМ) приводила к достоверному повышению базального тонуса сосудов молодых крыс самцов и к значительному увеличению сократительного ответа на воздействие 5HT, о чем свидетельствовало смещение кривой зависимости «концентрация-эффект» влево (рис. 1, А). В отличие от молодых животных в присутствии блокатора Kir2 каналов в аорте старых крыс самцов не наблюдалось увеличения базального тонуса, но сохранялся эффект $BaCl_2$ на силу сокращения сосудов в ответ на воздействие возрастающих концентраций 5HT (рис. 1, Б).

У молодых самок, как и у самцов, в присутствии $BaCl_2$ отмечено смещение кривой зависимости «концентрация-эффект» влево в ответ на воздействие 5HT

на изолированные кольца аорты (рис. 1, В). Однако в отличие от самцов, оно было не столь выраженным и проявлялось только при добавлении 5HT в высоких концентрациях. Кроме того, у молодых самок не выявлено влияния блокатора Kir2 каналов на базальный тонус аорты (рис. 1, В). По мере старения сосудов у крыс самок утрачивалась способность калиевых каналов внутреннего выпрямления противодействовать чрезмерному сокращению сосудов в ответ на воздействие вазоконстрикторных соединений. Увеличение силы сокращения сосудов старых самок в ответ на добавление возрастающих концентраций 5HT было одинаковым как в присутствии, так и в отсутствие $BaCl_2$ (рис. 1, Г).

В стареющих сосудах самцов уровень экспрессии генов *Kcnj2* и *Kcnj14* каналов Kir2.1 Kir2.4 остается неизменным (рис. 2). В отличие от самцов, в сосудах старых самок экспрессия генов *Kcnj14* каналов Kir2.4 значительно снижена.

В отличие от сосудов, в сердце старых крыс самцов выявлены значительные изменения на уровне экспрессии генов каналов Kir2.1 и Kir2.4. Как показано на рис. 3, А, в процессе старения в левом желудочке и левом предсердии крыс самцов значительно возрастает экспрессия *Kcnj2* (Kir2.1).

Во всех отделах сердца старых крыс самцов выявлен высокий уровень экспрессии генов каналов Kir2.4 по сравнению с аналогичными показателями молодых животных (рис. 3, А). В отличие от самцов, у старых самок рост экспрессии *Kcnj14* каналов наблюдается только в левом желудочке. Примечательно, что у старых самок в левом предсердии, снижено содержание мРНК каналов Kir2.1 и Kir2.4 (рис. 3, Б).

Обсуждение

Изучение влияния возраста и пола на развитие сердечно-сосудистых заболеваний имеет важное стратегическое значение для разработки схем лечения воз-

Последовательности праймеров

Primer sequences

Ген	Прямой праймер	Обратный праймер	Праймер с флуоресцентным зондом
<i>Actb</i> (beta actin)	CTGACAGGATGCAGAAG-GAG	GATAGAGCCACCAATCCAC	FAM-CAAGATCATTGCTCCTCCT-GAGC-BHQ1
<i>Kcnj2</i> (Kir2.1)	GCTGCCTTCCTCTCTCCA	GATTGACTGGAATACCACCATG	FAM-CCAGACAACCATCGGCTATG-GTTTC-BHQ1
<i>Kcnj14</i> (Kir2.4)	CCGAAGTCACCTGGTGAG	GTCAAAACCAACATCCACATCC	FAM-CAGCCCCGTGTGACCCAG-BHQ1

раст-ассоциированных заболеваний. В подавляющем большинстве случаев в основе развития возрастной сердечно-сосудистой патологии лежат нарушения на уровне функционирования рецепторов, ионных каналов, внутриклеточной сигнализации и кальциевого гомеостаза. Получение новых данных о механизмах физиологического старения и роли биологического пола приобретает особую актуальность для разработки профилактических и терапевтических стратегий для улучшения качества жизни лиц преклонного возраста. Старение сосудов и сердца и сопутствующие ему хронические заболевания в значительной степени являются «каналопатиями» [5, 16]. Важную роль в поддержании мембранного потенциала играют калиевые кана-

лы. По сравнению с другими ионными каналами в мировой литературе мало данных об изменении свойств классических калиевых каналов внутреннего выпрямления Kir2.x в стареющих сосудах и сердце. Сосудистые эффекты, обусловленные Kir2.x каналами, до сих пор наиболее изучены в резистивных сосудах [13, 20, 21].

В настоящем исследовании мы оценивали вклад Kir2 каналов в формирование базального и индуцированного тонуса аорты, поскольку с возрастом возрастает роль магистральных сосудов в регуляции системного кровотока. Установлено, что в процессе старения у крыс самцов уменьшается вклад Kir2 каналов в формирование базального тонуса аорты, но сохраняется их причастность к реализации меха-

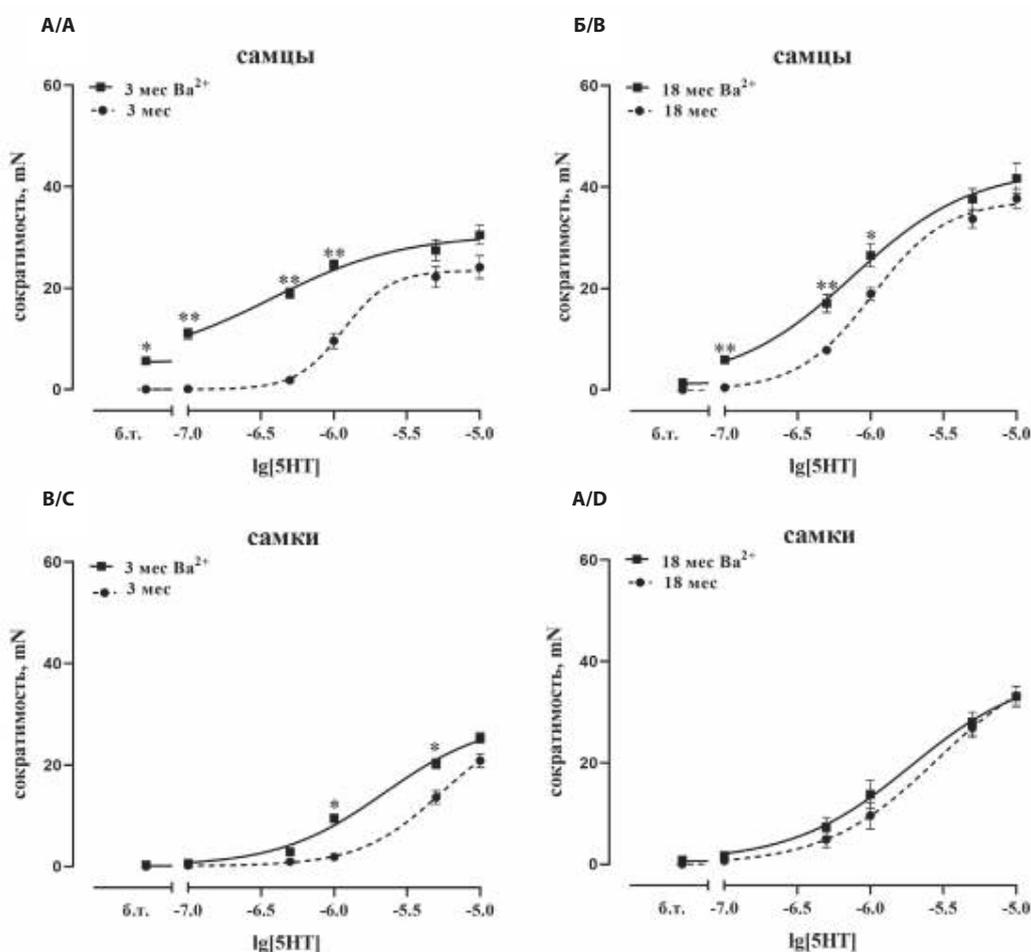


Рис. 1. Влияние блокатора Kir2 каналов BaCl₂ (100 мкМ) на базальный тонус и сократительные ответы аорты крыс. Зависимости «концентрация-эффект» на воздействие 5HT на изолированные фрагменты аорты крыс самцов (А, Б) и самок (В, Г) в возрасте 3 и 18 мес в отсутствие и в присутствии BaCl₂. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с группой без инкубации с BaCl₂.

Fig. 1. Effect of the Kir2 channel blocker BaCl₂ (100 μM) on the basal tone and contractile responses of the rat aorta. Concentration-effect relationships on the effect of 5HT on isolated fragments of the aorta of male (A, B) and female (C, D) rats at the age of 3 and 18 months in the absence and presence of BaCl₂. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ compared to the group without incubation with BaCl₂.

низма отрицательной обратной связи, активируемого воздействием вазоконстрикторов на сосуды. Пока не понятно, почему в процессе старения самцов утрачивается способность Kir2 каналов регулировать базальный тонус аорты. Известно, что Kir2 каналы модулируются фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфатом (PIP₂) и холестерином [6, 22]. Возможно, что с возрастом в мембране гладкомышечных и эндотелиальных клеток нарушаются липид-белковые взаимодействия, которые могут негативно повлиять на функциональную активность Kir2 каналов и базальный тонус сосудов.

В отличие от самцов у самок независимо от возраста не было выявлено влияние Kir2 каналов на базальный тонус. Модулирующее влияние этих каналов на 5HT-индуцированное сокращение аорты в процессе старения самок полностью нивелировалось (рис. 1). Снижение функциональной активности Kir2 каналов, независимо от механизма, лежащего в его основе, может быть одним из факторов развития артериальной гипертензии у особей женского пола в старости.

Известно, что Kir2.1 и Kir2.4 каналы экспрессируются как в эндотелиальных, так и в гладкомышечных

клетках сосудов [13, 23, 24]. Показано, что в аорте крысы и в эндотелиальных клетках аорты человека наиболее экспрессируемыми подтипами являются Kir2.2 и Kir2.4 [25]. В меньшем количестве экспрессируются Kir2.3 и 2.1 каналы. Обнаружено, что через Kir2.4 каналы проходит значительно больший ток ионов калия наружу по сравнению с Kir2.1, что свидетельствует о преобладающей роли этих каналов в поддержании потенциала покоя [26].

Результаты наших исследований показывают, что в аорте старых самок наблюдается двукратное снижение экспрессии мРНК генов Kir 2.4. Можно предпо-

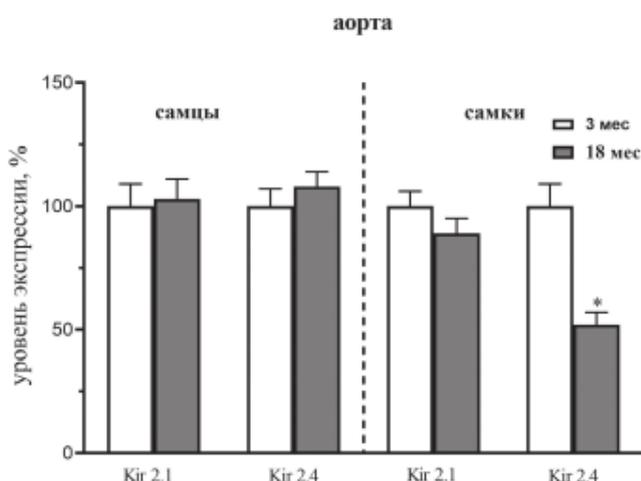


Рис. 2. Влияние возраста на уровень экспрессии мРНК генов *Kcnj2* (Kir2.1) и *Kcnj14* (Kir2.4) в аорте крыс самцов и самок. Здесь и далее содержание мРНК каждого исследуемого белка выражено в процентах от среднего значения содержания того же белка в группе молодых крыс самцов или самок, принятого за 100%. * – $p < 0,01$ по сравнению с крысами в возрасте 3 мес.

Fig. 2. Effect of age on the level of mRNA expression of the *Kcnj2* (Kir2.1) and *Kcnj14* (Kir2.4) genes in the aorta of male and female rats. Here and below, the mRNA quantity of each protein under study is expressed as a percentage of the average quantity of the same protein in a group of young male or female rats, taken as 100%. * – $p < 0.01$ compared with rats aged 3 months.

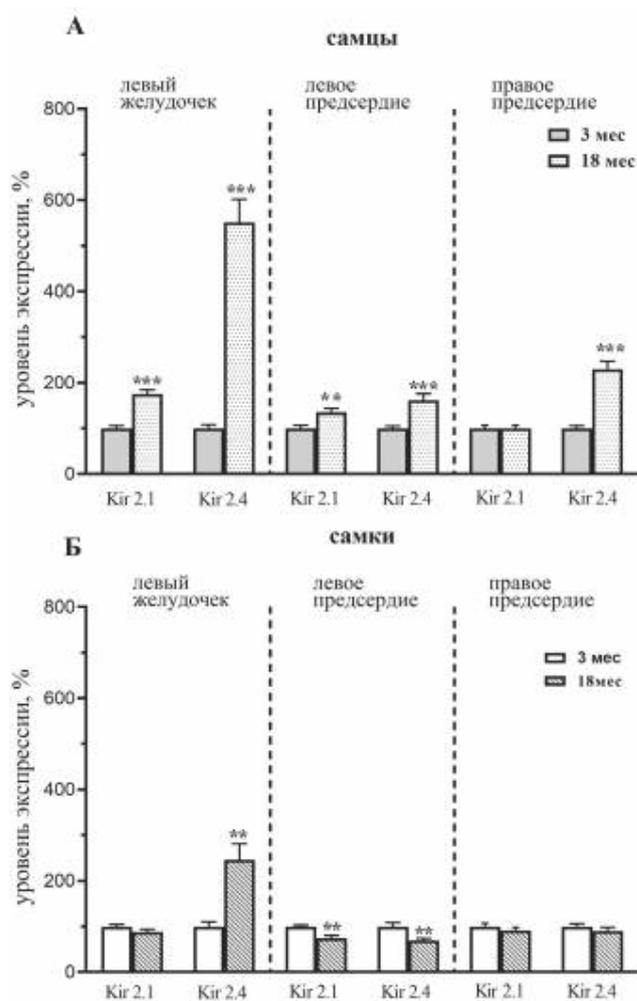


Рис. 3. Влияние возраста на уровень экспрессии мРНК генов *Kcnj2* (Kir2.1) и *Kcnj14* (Kir2.4) каналов в сердце крыс самцов и самок. * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,001$, *** – $p < 0,0001$ по сравнению с крысами в возрасте 3 мес.

Fig. 3. Effect of age on the level of mRNA expression of the *Kcnj2* (Kir2.1) and *Kcnj14* (Kir2.4) channel genes in the heart of male and female rats. * – $p < 0.01$, ** – $p < 0.001$, *** – $p < 0.0001$ compared with rats aged 3 months.

ложить, что одной из причин возрастного снижения вклада Kir каналов в формирование агонист-индуцированного ответа аорты крыс самок является значительное уменьшение уровня экспрессии Kir2.4. Нарушения функции этих ионных каналов в процессе старения сосудов могут зависеть и от других факторов – жесткости сосудистой стенки, клеточной сигнализации, гипертрофии клеток и состояния клеточных мембран [5, 6, 8]. Кроме того, известно, что изменение функциональной активности Kir2.1 и Kir2.4 каналов может быть обусловлено их гетеродимеризацией, нарушением трафика, а также экспрессией неактивных сплайс вариантов белков [12, 27].

Калиевые каналы внутреннего выпрямления Kir2 являются важнейшим звеном формирования терминальной реполяризации сердца и играют значительную роль в поддержании стабильности потенциала покоя в кардиомиоцитах [7]. Считается, что потеря или изменение калиевого тока внутреннего выпрямления по Kir2 каналам является основным фактором, способствующим аритмогенезу у людей с сердечной недостаточностью [15, 16, 28, 29].

Усиление функции гена *KCNJ2* (Kir2.1) приводит к сокращению потенциала действия и, как следствие, к уменьшению продолжительности рефрактерного периода предсердий и желудочков. С помощью компьютерного моделирования было продемонстрировано, что усиление функции Kir2.1 канала обеспечивает инициацию и стабилизацию «роторов» фибрилляции [30]. Также было показано, что при дилатационной кардиомиопатии в левом желудочке и левом предсердии значительно повышались уровни экспрессии каналов Kir2.1, Kir2.3 и Kir2.4 [31]. Судя по результатам наших исследований, наиболее значимые изменения развиваются в стареющем сердце крыс самцов, о чем свидетельствует многократное повышение экспрессии мРНК генов Kir2.1 и Kir2.4 каналов в желудочке и предсердиях. С учетом данных литературы, можно предположить, что высокий уровень экспрессии генов *Kcnj2* и *Kcnj14* каналов Kir2.1 и Kir2.4 может негативно повлиять на калиевый ток внутреннего выпрямления в кардиомиоцитах, инициировать нарушения сократительной функции миокарда и способствовать развитию аритмий у особей мужского пола в старости.

По сравнению с самцами, у старых крыс самок в сердце изменения экспрессии мРНК каналов Kir2.1 и Kir2.4 были не столь выраженными (рис. 3). По-видимому, у самок значительные возрастные изменения функциональной активности и экспрессии классических калиевых каналов внутреннего выпрямления в сердце развиваются в более старшем возрасте,

чем у самцов. Согласно мировой литературе у пожилых женщин по мере старения в первую очередь развивается сосудистая патология, а у пожилых мужчин – сердечная [32–34]. Однако с течением времени половые различия возрастной сердечно-сосудистой патологии сглаживаются. Стоит отметить, что на преобладающий риск развития сердечной патологии у особей мужского пола в процессе старения указывали ранее полученные нами данные о более выраженных изменениях экспрессии риаинодиновых Ryr2 и инозитол-1,4,5-трисфосфатных IP3R1,2,3 рецепторов, их модуляторов кальмодулина и Erac2, а также калиевых каналов большой проводимости MaxIK в миокарде крыс самцов по сравнению с самками того же возраста (24 мес) [19, 35].

Закключение

Таким образом, впервые продемонстрированы половые особенности возрастных изменений функциональной активности и экспрессии классических калиевых каналов внутреннего выпрямления. Показано, что только у крыс самок в процессе старения утрачивается защитная роль Kir2.x каналов от чрезмерного сокращения магистральных сосудов (аорты) на воздействие эндогенных вазоконстрикторов, что может вносить свой вклад в развитие артериальной гипертензии. Этот эффект затрагивает механизмы регуляции экспрессии генов, на что указывает снижение содержания мРНК Kir2.4 каналов в аорте старых самок. Отмечено, что сердце самцов наиболее подвержено возрастным изменениям экспрессии генов *Kcnj2* и *Kcnj14* каналов Kir2.1 и Kir2.4. С учетом данных литературы есть все основания полагать, что гиперэкспрессия этих каналов в различных отделах стареющего сердца самцов является предиктором развития дисфункции миокарда и возникновения желудочковых и предсердных аритмий в старости. Следовательно, при разработке новых подходов к профилактике и лечению возраст-ассоциированных заболеваний необходимо учитывать половые особенности возрастных изменений функциональной активности и экспрессии Kir2 каналов.

Литература

(п.п. 1-18; 20-34 см. References)

19. Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф. Половые различия возрастных изменений функциональной активности и экспрессии MaxIK каналов в аорте и сердце крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(4): 4–12. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.04.4-12>
35. Кожевникова Л.М., Суханова И.Ф., Семенова Н.П., Крыжановский С.А. Половые различия возрастных изменений экспрессии риаинодиновых: Ryr2 и инозитол-1,4,5-трисфосфат-

ных: IP3R1,2,3 рецепторов и их модуляторов CaM и Ерас в аорте и миокарде крыс. *Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии*. 2020; 37(6): 453-65.

References

- Niccoli T., Partridge L. Ageing as a risk factor for disease. *Curr Biol*. 2012; 22(17): R741-52. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.07.024>
- Vaduganathan M., Mensah G.A., Turco J.V., Fuster V., Roth G.A. The global burden of cardiovascular diseases and risk: a compass for future health. *J Am Coll Cardiol*. 2022; 80: 2361-71. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.11.005>
- Divo M.J., Martinez C.H., Mannino D.M. Ageing and the epidemiology of multimorbidity. *Eur Respir J*. 2014; 44: 1055-68. <https://doi.org/10.1183/09031936.00059814>
- Aguilar V.M., Paul A., Lazarko D., Levitan I. Paradigms of endothelial stiffening in cardiovascular disease and vascular aging. *Front Physiol*. 2023; 13: 1081119. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1081119>
- Behringer E. J. Impact of aging on vascular ion channels: perspectives and knowledge gaps across major organ systems. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2023; 325(5): H1012-H1038. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00288.2023>
- Sancho M., Welsh D.G. K_{IR} channels in the microvasculature: Regulatory properties and the lipid-hemodynamic environment. *Curr Top Membr*. 2020; 85: 227-59. <https://doi.org/10.1016/bs.ctm.2020.01.006>
- Reilly L., Eckhardt L.L. Cardiac potassium inward rectifier Kir2: Review of structure, regulation, pharmacology, and arrhythmogenesis. *Heart Rhythm*. 2021; 18(8): 1423-34. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2021.04.008>
- 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. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160011>
- 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. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2009>
- 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. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207987200>
- 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. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.026047>
- Schram G., Pourrier M., Wang Z., White M., Nattel S. Barium block of Kir2 and human cardiac inward rectifier currents: evidence for subunit-heteromeric contribution to native currents. *Cardiovasc Res*. 2003; 59(2): 328-38. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(03\)00366-3](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(03)00366-3)
- Li C., Yang Y. Advancements in the study of inward rectifying potassium channels on vascular cells. *Channels (Austin)*. 2023; 17(1): 2237303. <https://doi.org/10.1080/19336950.2023.2237303>
- Liu G.X., Derst C., Schlichthörl G., Heinen S., Seeböhm G., Brüggemann A., et al. Comparison of cloned Kir2 channels with native inward rectifier K⁺ channels from guinea-pig cardiomyocytes. *J Physiol*. 2001; 532(Pt 1): 115-26. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.0115g.x>
- Nerbonne J.M. Molecular Basis of Functional Myocardial Potassium Channel Diversity. *Card Electrophysiol Clin*. 2016; 8(2): 257-73. <https://doi.org/10.1016/j.ccep.2016.01.001>
- Mages C., Gampp H., Syren P., Rahm A.K., André F., Frey N., et al. Electrical Ventricular Remodeling in Dilated Cardiomyopathy. *Cells*. 2021; 10(10): 2767. <https://doi.org/10.3390/cells10102767>
- Anumonwo J.M.B., Lopatin A.N. Cardiac strong inward rectifier potassium channels. *J Mol Cell Cardiol*. 2010; 48(1): 45-54. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.08.013>
- Borggreffe M., Wolpert C., Antzelevitch C., Veltmann C., Giustetto C., Gaita F., et al. Short QT syndrome. Genotype-phenotype correlations. *J Electrocardiol*. 2005; 38(4 Suppl): 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.jelectrocard.2005.06.009>
- Kozhevnikova L.M., Sukhanova I.F. Sex differences in age-related changes in the functional activity and expression of MaxiK channels in rat aorta and heart. 2023; 67(4): 4-12. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2023; 67(4): 4-12. (in Russian). <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2023.04.4-12>
- Ko E.A., Han J., Jung I.D., Park W.S. Physiological roles of K⁺ channels in vascular smooth muscle cells. *J Smooth Muscle Res*. 2008; 44(2): 65-81. <https://doi.org/10.1540/jsmr.44.65>
- Sackheim A.M., Villalba N., Sancho M., Harraz O.F., Bonev A.D., D'Alessandro A., et al. Traumatic brain injury impairs systemic vascular function through disruption of inward-rectifier potassium channels. *Function (Oxf)*. 2021; 2(3): zqab018. <https://doi.org/10.1093/function/zqab018>
- Sancho M., Fletcher J., Welsh D.G. Inward rectifier potassium channels: Membrane lipid-dependent mechanosensitive gates in brain vascular cells. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9: 869481. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.869481>
- Boerman E.M., Sen S., Shaw R.L., Joshi T., Segal S.S. Gene expression profiles of ion channels and receptors in mouse resistance arteries: Effects of cell type, vascular bed, and age. *Microcirculation*. 2018; 25(4): e12452. <https://doi.org/10.1111/micc.12452>
- Sancho M., Fabris S., Hald B.O., Brett S.E., Sandow S.L., Poepping T.L., et al. Membrane Lipid-K_{IR}2.x channel interactions enable hemodynamic sensing in cerebral arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019; 39(6): 1072-87. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.312493>
- Fang Y., Schram G., Romanenko V.G., Shi C., Conti L., Vandenberg C.A., et al. Functional expression of Kir2.x in human aortic endothelial cells: the dominant role of Kir2.2. *Am. J. Physiol*. 2005; 289: C1134-C1144. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00077.2005>
- Tennant B.P., Cui Y., Tinker A., Clapp L.H. Functional expression of inward rectifier potassium channels in cultured human pulmonary smooth muscle cells: evidence for a major role of Kir2.4 subunits. *J Membr Biol*. 2006; 213(1): 19-29. <https://doi.org/10.1007/s00232-006-0037-y>
- Ohya S., Kito H., Hatano N., Muraki K. Recent advances in therapeutic strategies that focus on the regulation of ion channel expression. *Pharmacol Ther*. 2016; 160: 11-43. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.02.001>
- Girmatsion Z., Biliczki P., Bonauer A., Wimmer-Greinecker G., Scherer M., Moritz A., et al. Changes in microRNA-1 expression and IK1 up-regulation in human atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2009; 6(12): 1802-9. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2009.08.035>
- Biliczki P., Girmatsion Z., Brandes R.P., Harenkamp S., Pitard B., Charpentier F., et al. Trafficking-deficient long QT syndrome mutation KCNQ1-T587M confers severe clinical phenotype by impairment of KCNH2 membrane localization: evidence for clinically significant

- IKr-IKs alpha-subunit interaction. *Heart Rhythm*. 2009; 6(12): 1792-801. <https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2009.08.009>
30. 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. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.121475>
31. Szuts V., Ménesi D., Varga-Orvos Z., Zvara Á., Houshmand N., Bitay M., et al. Altered expression of genes for Kir ion channels in dilated cardiomyopathy. *Can J Physiol Pharmacol*. 2013; 91(8): 648-56. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2012-0413>
32. Al-Gburi S., Deussen A.J., Galli R., Muders M.H., Zatschler B., Neisser A., et al. Sex-specific differences in age-dependent progression of aortic dysfunction and related cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2017; 312 (5): R835–R849.
33. Kavousi M. Differences in epidemiology and risk factors for atrial fibrillation between women and men. *Front Cardiovasc Med*. 2020; 7: 3. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00003>
34. Aribas E., Roeters van Lennep J.E., De Rijke Y.B., Laven J.S.E., Ikram M.A., Peeters R.P., et al. Sex steroids and sex steroid-binding globulin levels amongst middle-aged and elderly men and women from general population. *Eur J Clin Invest*. 2022; 52(12): e13866. <https://doi.org/10.1111/eci.13866>
35. 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. *Biologicheskie membrany: Zhurnal membrannoy i kletchnoy biologii*. 2020; 37(6): 453-65. (in Russian). <https://doi.org/10.31857/S0233475520050084>

Сведения об авторах:

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

Кожевникова Любовь Михайловна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр. лаб. хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ НИИОПП, e-mail: lubovmih@yandex.ru