

РОЛЬ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ ВХОДЯЩЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ В РЕАКЦИЯХ РАССЛАБЛЕНИЯ АРТЕРИЙ ЗАДНЕЙ КОНЕЧНОСТИ КРЫСЫ

© 2016 г. Д.С. Костюнина*, А.А. Швецова*, Д.К. Гайнуллина*, О.С. Тарасова* **

*Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, 1/12

E-mail: kostyunina.d@yandex.ru

**Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76а

E-mail: ost.msu@gmail.com

Поступила в редакцию 15.06.16 г.

При интенсивном метаболизме, а также эндотелий-зависимой гиперполяризации в некоторых органах может происходить увеличение внеклеточной концентрации K^+ , которое вызывает расслабление артерий за счет активации калиевых каналов входящего выпрямления. Целью работы было сравнение вклада этих каналов в регуляцию тонуса артерий, питающих скелетные мышцы и кожу. В изометрическом режиме регистрировали реакции артерий кожного региона (подкожной артерии и ее веточки) и артерий икроножной мышцы. На фоне сокращения, вызванного агонистом α_1 -адренорецепторов, регистрировали реакции расслабления на повышение внеклеточной концентрации K^+ и на ацетилхолин в присутствии ингибиторов NO-синтазы и циклооксигеназы (для выявления эффектов эндотелий-зависимой гиперполяризации). Артерии мышцы при обоих воздействиях проявляли выраженное расслабление, которое сильно подавлялось ионами Ca^{2+} , блокаторами калиевых каналов входящего выпрямления; в артериях кожи обе реакции не превышали 20%. Таким образом, регуляторное влияние калиевых каналов входящего выпрямления в артериях мышц намного выше, чем в артериях кожи, что согласуется с представлениями о функционировании этих артерий в организме.

Ключевые слова: гладкая мышца, ионы калия, эндотелий-зависимая гиперполяризация, метоксамин, артерии икроножной мышцы, подкожная артерия.

Кровоснабжение органов зависит от тонуса питающих их артерий. Существует множество разнообразных механизмов регуляции тонуса артерий, причем вклад каждого из них может зависеть от конкретного региона сосудистого русла. Важную роль в регуляции тонуса сосудов играют калиевые каналы гладкомышечных клеток (ГМК). Калиевые каналы являются ключевыми регуляторами уровня мембранного потенциала ГМК: при физиологических значениях мембранного потенциала открытие K^+ -каналов приводит к гиперполяризации ГМК и их расслаблению [1].

Особенностью калиевых каналов входящего выпрямления (K_{IR}), а именно подтипов $K_{IR2.1}$ и $K_{IR2.2}$, которые экспрессируются в ГМК [2,3], является увеличение проводимости при повы-

шении внеклеточной концентрации K^+ ($[K^+]_{out}$) [4]. При мембранном потенциале более отрицательном, чем равновесный калиевый потенциал, K_{IR} проводят входящий K^+ -ток, величина которого линейно зависит от уровня мембранного потенциала. При мембранном потенциале более положительном, чем равновесный калиевый потенциал, регистрируется небольшой выходящий ток. С увеличением деполяризации выходящий K^+ -ток быстро уменьшается и затем исчезает, что обусловлено влиянием положительно заряженных Mg^{2+} и полиаминов, которые закупоривают пору K_{IR} с цитоплазматической стороны [5,6]. Активация K_{IR} при повышении $[K^+]_{out}$ может быть обусловлена следующими механизмами. Во-первых, повышение $[K^+]_{out}$ приводит к сдвигу вольт-амперной характеристики в положительную сторону, что может вызвать увеличение выходящего K^+ -тока через K_{IR} в области значений мембранного потенциала, близких к потенциалу покоя ГМК [1,7]. Во-вторых, при увеличении $[K^+]_{out}$ ионы K^+ с внешней

Сокращения: ГМК – гладкомышечные клетки, K_{IR} – калиевые каналы входящего выпрямления, $[K^+]_{out}$ – внеклеточная концентрация K^+ , EDH – эндотелий-зависимая гиперполяризация.

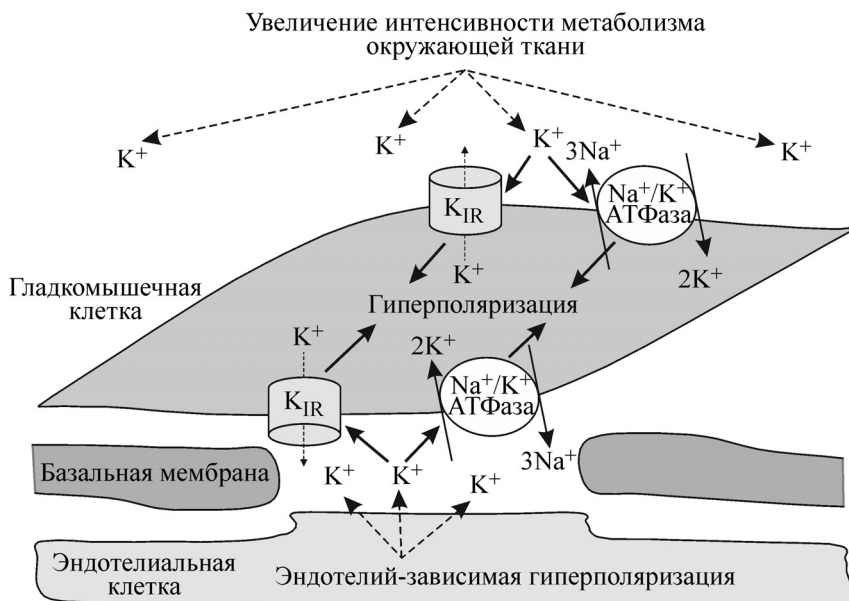


Рис. 1. Механизмы гиперполяризации гладкомышечных клеток артерий при повышении $[K^+]_{out}$. Источником K^+ может служить окружающая ткань или эндотелий. В первом случае повышение $[K^+]_{out}$ носит глобальный характер, а во втором происходит локально между эндотелиальными и гладкомышечными клетками и представляет собой один из механизмов эндотелий-зависимой гиперполяризации. Гиперполяризующее действие K^+ может быть связано с активацией калиевых каналов входящего выпрямления (K_{IR}) и/или Na^+/K^+ -АТФазы.

стороны мембраны могут электростатически отталкивать положительно заряженные Mg^{2+} и полиамины [8]. Также есть данные о том, что K^+ может напрямую взаимодействовать с K_{IR} , вероятно, изменяя конформацию этих каналов [9]. В пользу этой точки зрения говорит то, что увеличение K^+ -тока через K_{IR} при повышении $[K^+]_{out}$ может происходить даже в случае отсутствия внутриклеточных блокирующих молекул [10].

Вклад K_{IR} в регуляцию тонуса артерий может зависеть от конкретного региона сосудистого русла. В некоторых органах, таких как головной мозг, скелетная мускулатура, сердце увеличение интенсивности метаболизма сопряжено со значительным повышением $[K^+]_{out}$, что ведет к активации K_{IR} и расслаблению ГМК сосудов [11–13]. Гиперполяризация ГМК при повышении $[K^+]_{out}$ также может быть связана с активацией Na^+/K^+ -АТФазы [12]. Однако K^+ -зависимая регуляция тонуса артерий других органов изучена мало, в первую очередь это относится к артериям кожи.

Повышение $[K^+]_{out}$ может происходить не только глобально, при увеличении интенсивности метаболизма ткани, но и локально, при активации эндотелия (рис. 1). В норме секреторная активность эндотелия направлена на продукцию сосудорасширяющих факторов [14]. К основным факторам эндотелий-зависимого

расслабления относятся NO, простаглицлин и эндотелий-зависимая гиперполяризация (EDH) [15]. В отличие от возбудимых клеток, повышение активности которых связано с деполяризацией, активация эндотелия ведет к его гиперполяризации, основным механизмом которой является выход K^+ через Ca^{2+} -зависимые каналы средней и малой проводимости [15]. Локальное повышение $[K^+]_{out}$ в местах сближения эндотелиальных и гладкомышечных клеток активирует K_{IR} и Na^+/K^+ -АТФазу ГМК, что приводит к гиперполяризации ГМК и расслаблению сосуда. Кроме того, гиперполяризующий сигнал может передаваться ГМК через миоэндотелиальные щелевые контакты или же с помощью других механизмов [15]. Следует отметить, что вклад EDH в эндотелий-зависимое расслабление и механизмы EDH могут существенно варьировать в зависимости от сосудистого региона и размера сосудов [16–18].

Целью данной работы было установить, какой вклад вносят K_{IR} в регуляцию тонуса артериальных сосудов в двух функционально различных регионах задней конечности крысы: кожи и скелетных мышц. Для этого мы изучали реакции артерий кожи и скелетных мышц на увеличение $[K^+]_{out}$, а также EDH-компоненту эндотелий-зависимого расслабления этих артерий. Вклад K_{IR} в эти реакции оценивали по действию их блокатора Ba^{2+} .

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали самцов крыс линии Вистар в возрасте трех–пяти месяцев (масса тела 270–440 г), полученных из питомника ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (1977). Крыс содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде.

Объект и процедура исследования. В качестве объектов исследования были выбраны две артерии кожного региона (подкожная артерия и идущая в стопу веточка этой артерии) и артерии икроножной мышцы (питающие ее латеральную и медиальную головки). Крыс декапитировали гильотиной и выделяли исследуемые артерии. Кольцевые сегменты артерии длиной 2 мм закрепляли в миографе (410А, 420М или 620М, DMT, Дания) для регистрации сокращения в изометрическом режиме. Показания тензометрических датчиков оцифровывали с частотой 10 Гц с использованием аналого-цифрового преобразователя (Е14-140, L-CARD, Россия) и регистрировали при помощи программы PowerGraph 3.3 («ДИСофт», Россия).

Использовали раствор следующего состава (мм): NaCl – 120, NaHCO₃ – 26, KCl – 4,5, CaCl₂ – 1,6, MgSO₄ – 1, NaH₂PO₄ – 1,2, D-глюкоза – 5,5, ЭДТА – 0,025, HEPES – 5. Раствор непрерывно аэрировали карбогеном (95% O₂ + 5% CO₂) для оксигенации и поддержания значения pH 7,4. После нагрева до 37°C определяли растяжение препарата, оптимальное для проявления сократительной активности, в ходе этой процедуры также вычисляли внутренний диаметр сосуда, соответствующий давлению 100 мм рт. ст. [19]. Затем препараты активировали последовательным добавлением норадреналина (10⁻⁵ М) и метоксамина (агонист α₁-адренорецепторов, 10⁻⁵ М), длительность каждого сокращения – 5 мин, интервал – 15 мин. Функциональное состояние эндотелия оценивали по реакции на ацетилхолин (10⁻⁵ М) на фоне предсокращения, вызванного норадреналином (10⁻⁶ М).

Протокол эксперимента. В начале эксперимента регистрировали зависимость «концентрация–эффект» на метоксамин в диапазоне концентраций от 10⁻⁸ до 10⁻⁴ М. По этой зависимости определяли максимальную силу сокращения препарата (100%) и концентрацию метоксамина, при которой сила сокращения составляет 70% от максимума (уровень предсокращения препарата при оценке влияния расслабляющих стимулов). Регистрировали реак-

ции расслабления: (1) на увеличение [K⁺]_{out} – путем добавления маточного раствора KCl (2,5 М) в объеме, необходимом для повышения [K⁺]_{out} (в диапазоне от 5,75 до 19,5 мМ, действие каждой концентрации – 2 мин); (2) на ацетилхолин (от 10⁻⁹ до 10⁻⁵ М, действие каждой концентрации – около 1 мин). Для выявления EDH-компоненты реакции на ацетилхолин исследовали в присутствии ингибиторов NO-синтазы (L-NNA, 100 мкМ) и циклооксигеназы (индометацин, 10 мкМ).

В каждом эксперименте реакции на увеличение [K⁺]_{out} и ацетилхолин исследовали дважды. В первой зависимости «концентрация–эффект» оценивали исходные реакции препаратов на увеличение [K⁺]_{out} или ацетилхолин. Затем препараты были распределены на группы, которые исходно не различались по реакциям на исследуемые воздействия (данные не представлены). Во второй зависимости «концентрация–эффект» исследовали эффекты блокады K_{IR} (Ba²⁺, 30 мкМ) в отдельности и в сочетании с ингибированием Na⁺/K⁺-АТФазы (уабаин, 1 мМ). Кроме того, в одной из групп вторую зависимость «концентрация–эффект» проводили в отсутствие блокаторов («контрольные условия»).

Обработка результатов. Реакции на различные концентрации метоксамина оценивали по приросту регистрируемой силы, а чувствительность препаратов к метоксамину – по показателю $-\lg EC_{50}$, где EC_{50} – концентрация агониста, при которой сократительный ответ равен 50% от максимума.

При обработке зависимостей «концентрация–эффект» для KCl вычисляли среднее значение силы сокращения за 2 мин после каждого повышения концентрации. При обработке зависимостей «концентрация–эффект» для ацетилхолина определяли минимальное значение силы сокращения (т.е. наибольшее расслабление) при действии каждой концентрации вещества. Полученные значения выражали в процентах от величины предсокращения (силы вызванного метоксаминном сокращения перед добавлением первой концентрации вазорелаксанта).

Все данные представлены как среднее ± ошибка среднего. Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., США). Использовали двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений с поправкой Тьюки на множественное сравнение. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристики артерий. Внутренний диаметр подкожной артерии был равен 603 ± 11 мкм, веточки подкожной артерии – 275 ± 11 мкм, а артерий икроножной мышцы – 306 ± 6 мкм. Максимальная сила сокращений подкожной артерии составила 34 ± 1 мН, веточки подкожной артерии – 17 ± 1 мН, артерии икроножной мышцы – 20 ± 1 мН. Исходя из этих данных, можно считать, что веточка подкожной артерии и артерии икроножной мышцы сопоставимы по внутреннему диаметру и максимальной силе сокращения. Чувствительность к метоксамину подкожной артерии, ее веточки и артерий икроножной мышцы не различалась: значения $-lgEC_{50}$ составили $6,03 \pm 0,02$, $6,02 \pm 0,03$ и $5,99 \pm 0,02$ соответственно.

Реакции артерий на увеличение $[K^+]_{out}$. В подкожной артерии повышение $[K^+]_{out}$ в диапазоне от 5,75 до 19,5 мМ вызывало умеренное расслабление, которое было наиболее выраженным при $[K^+]_{out}$ 7,5 мМ (до 20% от уровня исходного сокращения) (рис. 1а,б). В веточке подкожной артерии расслабление на повышение $[K^+]_{out}$ практически отсутствовало (рис. 1в,г). В отличие от артерий кожи увеличение $[K^+]_{out}$ вызывало значительное расслабление артерий икроножной мышцы – в диапазоне от 8,25 до 19,5 мМ более чем на 80% (рис. 1д,е).

Блокада K_{IR} не изменила реакцию подкожной артерии на повышение $[K^+]_{out}$. Совместная блокада K_{IR} и Na^+/K^+ -АТФазы привела к подавлению дилататорной реакции подкожной артерии при действии низких $[K^+]_{out}$ (рис. 1б). В веточке подкожной артерии, где расслабление на повышение $[K^+]_{out}$ не было выражено, эффекты блокады K_{IR} и Na^+/K^+ -АТФазы отсутствовали (рис. 1г).

В артериях икроножной мышцы блокада K_{IR} привела к уменьшению расслабления в диапазоне $[K^+]_{out}$ от 5,75 до 12 мМ и к практически полному его подавлению при более высоких значениях $[K^+]_{out}$ (рис. 1е). Совместная блокада K_{IR} и Na^+/K^+ -АТФазы практически полностью устраняла расслабление при действии низких концентраций $[K^+]_{out}$, однако при действии умеренных и высоких $[K^+]_{out}$ наблюдалось снижение силы сокращения (рис. 1е). Профиль такого снижения силы позволил нам предположить, что оно не связано с действием $[K^+]_{out}$, а происходит спонтанно. Для проверки этой гипотезы мы провели дополнительную серию экспериментов, в которых не проводили повышения $[K^+]_{out}$, но по-прежнему наблюдали спон-

танное уменьшение силы с течением времени в присутствии Ba^{2+} и убаина (рис. 1е, пунктирная линия).

Реакции артерий на ацетилхолин. Все исследуемые артерии демонстрировали выраженное расслабление на ацетилхолин, которое составило 80–90% от исходного уровня предсокращения (рис. 2а–в, кривые 1). Однако вклад EDH, определяемый как компонента реакции расслабления после блокады NO-синтазы и циклооксигеназы, сильно различался: в подкожной артерии и ее веточке он был выражен слабо, а в артериях икроножной мышцы составлял значительную часть реакции на ацетилхолин (рис. 2).

Блокада K_{IR} не изменила EDH-компоненту эндотелий-зависимого расслабления подкожной артерии (рис. 2а), однако полностью устранила EDH-компоненту в веточке подкожной артерии (рис. 2б). В артериях икроножной мышцы EDH-компонента эндотелий-зависимого расслабления артерий после блокады K_{IR} значительно уменьшалась (рис. 2в). Такое влияние блокатора K_{IR} было наиболее выраженным в диапазоне концентраций ацетилхолина от $3 \cdot 10^{-7}$ до 10^{-5} М. При совместной блокаде K_{IR} и Na^+/K^+ -АТФазы EDH-компонента эндотелий-зависимого расслабления полностью ингибировалась во всех исследуемых артериях (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно полученным данным, артерии икроножной мышцы демонстрируют выраженное расслабление на повышение $[K^+]_{out}$ и большую EDH-компоненту реакции на ацетилхолин, обе реакции значительно уменьшаются после блокады K_{IR} . В артериях кожи реакция на увеличение $[K^+]_{out}$ и действие EDH выражены слабо. В подкожной артерии эти реакции реализуются без участия K_{IR} , однако блокада K_{IR} устраняет небольшую EDH-компоненту реакции веточки подкожной артерии.

Механизмы расслабления артерий икроножной мышцы при повышении $[K^+]_{out}$. Весомый вклад K_{IR} в расслабление, вызванное повышением $[K^+]_{out}$, был показан ранее для артерий других скелетных мышц. Например, K^+ -индуцированное расслабление артерий *m. cremaster* крысы целиком обусловлено активацией K_{IR} [11]. В нашей работе блокатор K_{IR} лишь уменьшал расслабление артерий икроножной мышцы на повышение $[K^+]_{out}$, но не подавлял его полностью; остаточная компонента реакции была обусловлена влиянием Na^+/K^+ -АТФазы. Сходным образом, EDH-компонента реакции на ацетилхолин уменьшалась при блокаде K_{IR} и уст-

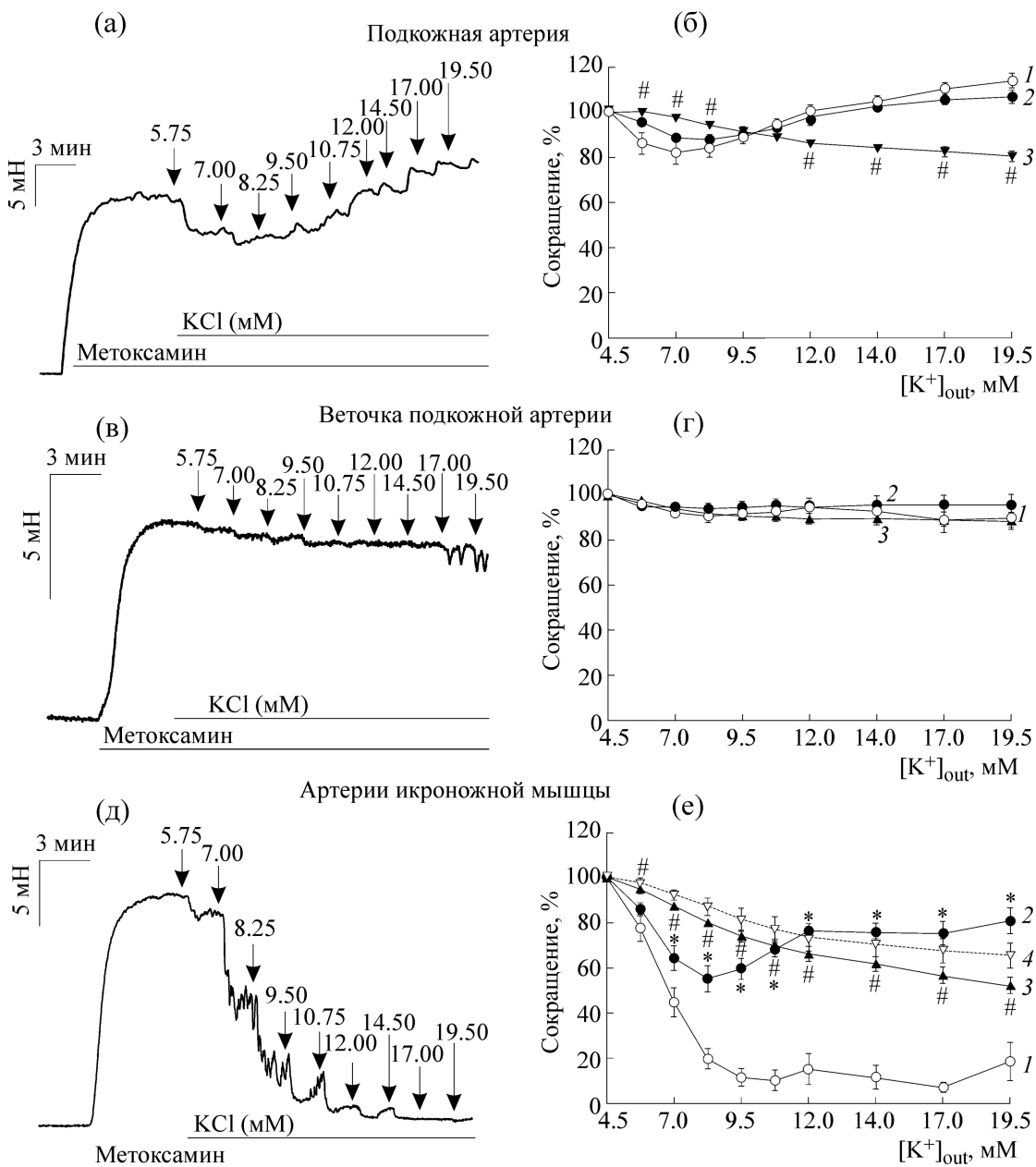


Рис. 2. Реакции артерий на повышение $[K^+]_{out}$. Подкожная артерия: (а) – оригинальная запись эксперимента; (б) – зависимости «концентрация–эффект» в контрольных условиях (кривая 1, $n = 9$), в присутствии Ba^{2+} (кривая 2, $n = 6$) или Ba^{2+} с убаином (кривая 3, $n = 4$). Веточка подкожной артерии: (в) – оригинальная запись эксперимента; (г) – зависимость «концентрация–эффект» в контрольных условиях (кривая 1, $n = 7$), в присутствии Ba^{2+} (кривая 2, $n = 6$) или Ba^{2+} с убаином (кривая 3, $n = 7$). Артерии икроножной мышцы: (д) – оригинальная запись эксперимента; (е) – зависимость «концентрация–эффект» в контрольных условиях (кривая 1, $n = 10$), в присутствии Ba^{2+} (кривая 2, $n = 9$) или Ba^{2+} с убаином (кривая 3, $n = 6$), а также спонтанное снижение силы сокращения в присутствии Ba^{2+} и убаина без увеличения $[K^+]_{out}$ (кривая 4, $n = 4$). *, # – $p < 0,05$ по сравнению с кривой 1.

ранялась при совместной блокаде K_{IR} и Na^+/K^+ -АТФазы.

Интересно, что в обоих случаях влияние блокатора K_{IR} было в большей степени выраженным на фоне высоких значений $[K^+]_{out}$ или ацетилхолина. Напротив, влияние Na^+/K^+ -

АТФазы проявлялось в области низких $[K^+]_{out}$. Сходная зависимость влияния блокаторов от $[K^+]_{out}$ была показана ранее в экспериментах на артериях мозга крысы [11]. Считается, что влияние Na^+/K^+ -АТФазы в области высоких значений $[K^+]_{out}$ ограничивается ее насыщением

по K^+ , а также снижением внутриклеточной концентрации Na^+ , которое может возникать при повышении активности этого переносчика [7]. В связи с этим для поддержания расслабления в области сравнительно высоких значений $[K^+]_{out}$ необходимо участие K_{IR} . Если предположить, что $[K^+]_{out}$ между эндотелием и ГМК зависит от степени активации эндотелия, становится ясным, почему в области низких концентраций ацетилхолина проявляется влияние Na^+/K^+ -АТФазы, а в области более высоких – влияние K_{IR} .

В присутствии Ba^{2+} и убаина артерии икроножной мышцы теряли способность к поддержанию стабильного тонуса; такое влияние оказывал именно убаин, а не блокада K_{IR} . Для полной блокады Na^+/K^+ -АТФазы мы были вынуждены использовать высокую концентрацию убаина (1 мМ), поскольку у грызунов α_1 -изоформа этого фермента мало чувствительна к убаину. Показано, что при длительной инкубации артерий с высокой концентрацией убаина может происходить нарушение ионного гомеостаза ГМК [20]. Также известно, что такое воздействие может приводить к снижению Ca^{2+} -чувствительности сократительного аппарата ГМК, в связи с этим сила сокращения падает [21]. Однако в присутствии L-NNA и индометацина действие убаина не сопровождалось спонтанным уменьшением тонуса артерий. На основании этого можно предположить, что релаксирующее влияние убаина частично связано с его влиянием на эндотелий и/или затрагивает сигнальные пути, активируемые в ГМК продуктами NO-синтазы и/или циклооксигеназы.

Известно, что K_{IR} могут находиться как в эндотелиальных, так и в гладкомышечных клетках [9]. Мы полагаем, что в расслаблении артерий на повышение $[K^+]_{out}$ в основном были задействованы «гладкомышечные» K_{IR} . По данным других авторов, удаление эндотелия не изменяет вклад K_{IR} в расслабление артерий сердца и головного мозга, вызванное повышением $[K^+]_{out}$ [22]. Вместе с тем K_{IR} , расположенные в эндотелии, могут быть задействованы в EDH-зависимом расслаблении артерий [23]. K^+ , выходящий из эндотелия через Ca^{2+} -активируемые калиевые каналы малой и средней проводимости [15,24], может аутокринно активировать эндотелиальные K_{IR} , что будет усиливать гиперполяризацию клеток эндотелия и облегчать поступление в них Ca^{2+} . В свою очередь, Ca^{2+} будет дополнительно активировать расположенные в эндотелии Ca^{2+} -активируемые калиевые каналы малой и средней проводимости,

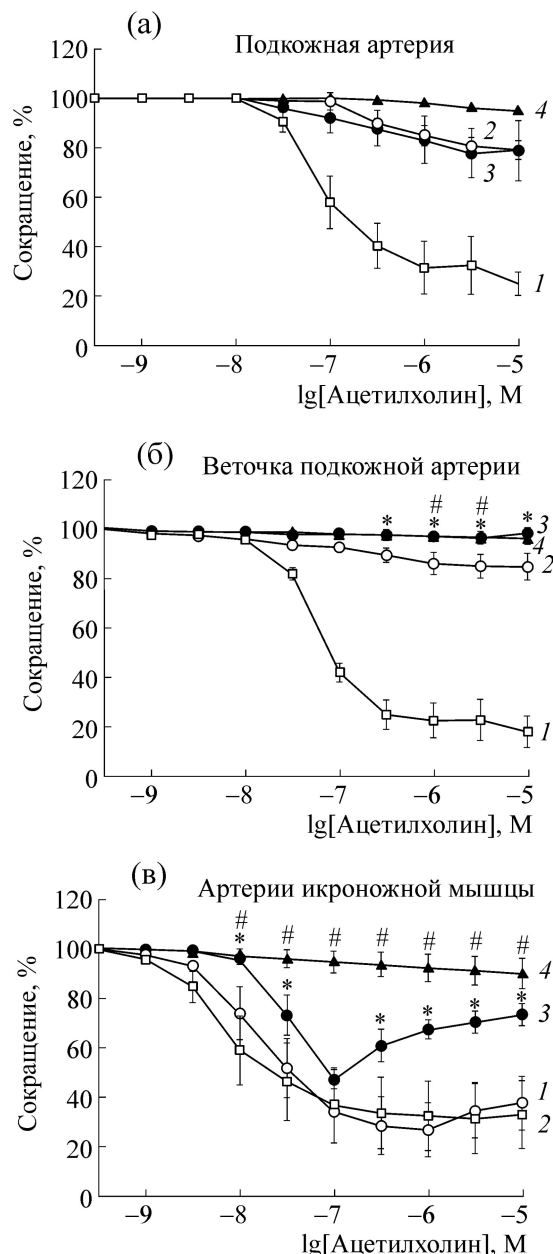


Рис. 3. Эндотелий-зависимое расслабление артерий на ацетилхолин. Подкожная артерия (а): кривая 1 – контроль ($n = 6$); кривая 2 – L-NNA + индометацин ($n = 6$); кривая 3 – Ba^{2+} + L-NNA + индометацин ($n = 3$); кривая 4 – Ba^{2+} + убаин + L-NNA + индометацин ($n = 1$). Веточка подкожной артерии (б): кривая 1 – контроль ($n = 5$); кривая 2 – L-NNA + индометацин ($n = 5$); кривая 3 – Ba^{2+} + L-NNA + индометацин ($n = 6$); кривая 4 – Ba^{2+} + убаин + L-NNA + индометацин ($n = 7$). Артерии икроножной мышцы (в): кривая 1 – контроль ($n = 6$); кривая 2 – L-NNA + индометацин ($n = 6$); кривая 3 – Ba^{2+} + L-NNA + индометацин ($n = 6$); кривая 4 – Ba^{2+} + убаин + L-NNA + индометацин ($n = 5$). *, # – $p < 0,05$ по сравнению с кривой 2.

сти, замыкая положительную обратную связь в EDH-механизме.

Артерии кожи мало чувствительны к повышению $[K^+]_{out}$. Роль K_{IR} в регуляции тонуса артерий кожи изучена мало. Мы исследовали реакции двух артерий кожного региона, которые различались по диаметру и расположению в сосудистом русле; при этом веточка подкожной артерии по диаметру и силе сокращения была сходной с артериями икроножной мышцы.

Известно, что в других органах артерии разных порядков ветвления могут существенно различаться по реакциям на увеличение $[K^+]_{out}$ и вкладу EDH в эндотелий-зависимое расслабление [18,25]. Однако мы показали, что в коже такой зависимости не наблюдается: подкожная артерия и ее веточка мало расслабляются как при повышении $[K^+]_{out}$, так и при действии EDH; обе реакции намного меньше, чем в артериях икроножной мышцы. Расслабление подкожной артерии при увеличении $[K^+]_{out}$ не изменялось в присутствии Ca^{2+} , но блокировалось убаином, т.е. было обусловлено влиянием Na^+/K^+ -АТФазы. Примечательно, что расслабление и, соответственно, эффект убаина проявлялись в области низких $[K^+]_{out}$. EDH-расслабление подкожной артерии также исчезало в присутствии убаина. Кроме подкожной артерии, такая «тотальная» зависимость реакций расслабления от активности Na^+/K^+ -АТФазы характерна для некоторых других периферических артерий, например мелких артерий брыжейки [2].

Веточка подкожной артерии не расслаблялась при увеличении $[K^+]_{out}$ (независимо от присутствия Ca^{2+}), но при действии EDH демонстрировала небольшое расслабление, которое устранялось блокадой K_{IR} . Такое различное рекрутирование K_{IR} при двух воздействиях можно объяснить расположением этих каналов в стенке сосуда. K_{IR} , расположенные в местах сближения эндотелия и ГМК, могут активироваться при локальном повышении $[K^+]_{out}$, но быть недоступными для «внешнего» K^+ из-за экранирования эндотелиальными и гладкомышечными клетками. Таким образом, в артериях кожи вклад K_{IR} невелик, но может увеличиваться с уменьшением диаметра артерий, как, например, в почке [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы показали, что K_{IR} играют важную роль в реакциях артерий скелетных мышц как при глобальном повышении $[K^+]_{out}$, так и при активации эндотелия. В артериях кожи эти реакции выражены намного слабее, чем в артериях скелетных мышц. Это значит, что K_{IR} более

важны для регуляции тонуса артерий скелетных мышц, чем артерий кожного региона.

Такое заключение согласуется с представлениями о роли K^+ как локального регулятора тонуса сосудов. K^+ -зависимое расслабление и роль K_{IR} как его ключевых посредников должны быть более выражены в органах, в которых интенсивность метаболических процессов и скорость кровотока могут изменяться в широких пределах; именно таким органом является скелетная мышца [26]. В отличие от мышц, кожный кровоток регулируется в основном нервными влияниями, а вклад локальных регуляторных механизмов не так велик. Соответственно, невелик вклад K_{IR} в регуляцию тонуса артерий кожи.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 16-04-01395-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. T. Nelson and J. M. Quayle, *Am. J. Physiol.* **268**, C799 (1995).
2. P. D. Smith, S. E. Brett, K. D. Luykenaar, et al., *J. Physiol.* **586** (4), 1147 (2008).
3. T. A. Longden, F. Dabertrand, D. C. Hill-Eubanks, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **111** (20), 7462 (2014).
4. T. A. Liu, H. K. Chang, and R. C. Shieh, *Biochim. Biophys. Acta* **1808**, 1772 (2011).
5. C. A. Vandenberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 2560 (1987).
6. A. N. Lopatin, E. N. Makhina, and C. G. Nichols, *Nature* **372**, 366 (1994).
7. T. A. Longden and M. T. Nelson, *Microcirculation* **22** (3), 183 (2015).
8. L. Yang, J. Edvinsson, and L. G. Palmer, *J. Gen. Physiol.* **140** (5), 529 (2012).
9. H. Hibino, et al., *Physiol. Rev.* **90**, 291 (2010).
10. A. N. Lopatin and C. G. Nichols, *Biophys. J.* **71**, 682 (1996).
11. J. G. McCarron and W. Halpern, *Am. J. Physiol.* **259**, H902 (1990).
12. H. Ulusoy and M. Kaya, *Acta Physiol. Hung.* **96** (4), 427 (2009).
13. S. Chrissobolis, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **279**, H2704 (2000).
14. Д. К. Гайнуллина, С. И. Софронова и О. С. Тарасова, *Успехи физиол. наук* **44** (4), 88 (2013).
15. G. Edwards, M. Félétou, and A. H. Weston, *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* **459**, 863 (2010).
16. G. Edwards, K. A. Dora, M. J. Gardener, et al., *Nature* **396**, 269 (1998).
17. A. M. Mathewson and W. R. Dunn, *PLOS One* **9** (11), (2014).
18. H. Shimokawa, H. Yasutake, K. Fujii, et al., *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **28** (5), 703 (1996).

19. M. J. Mulvany and W. Halpern, *Circ. Res.* **41** (1), 19 (1977)
20. S. Taurin, N. O. Dulin, D. Pchejetski, et al., *J. Physiol.* **543** (Pt 3), 835 (2002).
21. H. Nilsson and J. M. Michael, *Hypertension* **3**, 691 (1981).
22. H. J. Knot, P. A. Zimmermann, and M. T. Nelson, *J. Physiol.* **492.2**, 419 (1996).
23. J. Ledoux, M. E. Werner, J. E. Brayden, and M. T. Nelson, *Physiology* **21**, 69 (2006).
24. S. L. Sandow and C. E. Hill, *Circ. Res.* **86**, 341 (2000).
25. L. Chilton, S. V. Smirnov, K. Loutzenhiser, et al., *Cardiovasc. Res.* **92**, 169 (2011).
26. I. Sarelius and U. Pohl, *Acta Physiol. (Oxf.)* **199** (4), 349 (2010).

The Role of Inwardly Rectifying Potassium Channels in Relaxation of Rat Hindlimb Arteries

D.S. Kostyunina*, A.A. Shvetsova*, D.K. Gaynullina*, and O.S. Tarasova* **

*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119991 Russia

**Institute for Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Khoroshevskoe shosse 76a, Moscow, 123007 Russia

During intensive tissue metabolism and endothelium-dependent hyperpolarization extracellular concentration of K^+ may increase and cause relaxation of arteries by activation of inwardly rectifying potassium channels. Our aim was to compare the contribution of these channels in tone regulation of skeletal muscle and skin arteries. When recording isometric tension using wire myograph we studied reactions of skin arteries (saphenous artery and its branch) and gastrocnemius muscle arteries. During precontraction induced by α_1 -adrenoreceptor agonist we recorded relaxation of arteries in response to elevation of extracellular concentration of K^+ and to acetylcholine in the presence of the inhibitors of NO-synthase and cyclooxygenase (in order to identify the effects of endothelium-dependent hyperpolarization). At the both stimuli muscle arteries produced a prominent relaxation which was almost completely suppressed by Ba^{2+} ions, blockers of inwardly rectifying potassium channels; reactions of skin arteries did not exceed 20%. Thus, the impact of inwardly rectifying potassium channels as the regulatory unit is much higher in muscle arteries than in skin arteries, as it correlates with functioning of these arteries in the organism.

Key words: smooth muscle, potassium ions, endothelium-derived hyperpolarization, methoxamine, arteries of gastrocnemius muscle, saphenous artery