

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 591.112.1

ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РАБОЧЕГО ПРЕДСЕРДНОГО МИОКАРДА КРЫСЫ ПРИ ЕГО ЛИПОТРАНСФЕКЦИИ микроРНК miR-1-3p, miR-153-3p И miR-133a-3p**В.С. Кузьмин^{1,2}, А.Д. Иванова^{1,*}, К.Б. Пустовит^{1,2}, Д.В. Абрамочкин^{1,2}**

¹ Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д.1, стр. 12;

² кафедра физиологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

*e-mail: ashka@yandex.ru

МикроРНК являются малыми одноцепочечными нуклеотидными последовательностями, которые могут регулировать экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. В настоящее время показано, что некоторые микроРНК играют важную роль в физиологии и патофизиологии сердечно-сосудистой системы. В данной работе впервые проведено изучение действия липотрансфекции такими микроРНК, как miR-1-3p, miR-153-3p и miR-133a-3p на электрофизиологические параметры миокардиальной ткани. С помощью стандартной микроэлектродной техники регистрировали потенциалы действия (ПД) в тканевых изолированных перфузируемых препаратах предсердия крысы после их обработки трансфицирующей смесью липосоμοобразующего агента и микроРНК miR-1-3p, miR-153-3p или miR-133a-3p. Показано, что обработка миокардиальной ткани трансфицирующим агентом приводит к пролонгированию фазы реполяризации ПД. Установлено, что микроРНК miR-1-3p и miR-153-3p не оказывает влияния на конфигурацию ПД в течение 6 ч после обработки тканевых препаратов. В то же время, микроРНК miR-133a-3p вызывала статистически значимое увеличение длительности ПД на уровне 90% реполяризации, которое было наибольшим через 4 ч после трансфекции. На основе поиска и анализа возможных мишеней для miR-133a-3p с помощью биоинформационных методов сделано предположение, что эта микроРНК может взаимодействовать с мРНК ряда протеинфосфатаз. Подавление экспрессии протеинфосфатаз в кардиомиоцитах может лежать в основе наблюдаемого увеличения длительности ПД при действии miR-133a-3p за счет влияния на белки кальциевого круговорота.

Ключевые слова: потенциал действия, биоэлектрическая активность, предсердный миокард, трансфекция, микроРНК, сайленсинг, РНК-интерференция

МикроРНК являются малыми одноцепочечными нуклеотидными последовательностями, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне посредством взаимодействия с мРНК белков (так называемой РНК-интерференции или сайленсинга) и, соответственно, влияют на функционирование клеток. Исследования генома человека показали, что существует более 2000 микроРНК, часть из которых является тканеспецифическими. Установлено, что микроРНК являются важными регуляторами целого ряда биологических процессов – например, эмбрионального развития. Показано, что помимо внутриклеточных микроРНК существуют «циркулирующие микроРНК» – молекулы, которые в составе комплексов с транспортными белками или в составе липидных везикул высвобождаются во внеклеточную среду и транспортируются от ткани к ткани кровеносной системой. Отдельные вну-

триклеточные и циркулирующие микроРНК в настоящее время рассматриваются как маркеры заболеваний, в том числе – сердечно-сосудистых [1]. Показано, что микроРНК играют важную роль в физиологии и патофизиологии сердечно-сосудистой системы [2].

Выявлена связь некоторых микроРНК с формированием ряда патологий сердца [3]. Например, микроРНК участвуют в формировании и определении типа атеросклероза [4, 5]. Показано, что экспрессия miR-133a-3p увеличена в нестабильных атеросклеротических бляшках [6]. Установлено, что микроРНК, являющиеся производными miR-133 могут способствовать предотвращению некоторых форм фибрилляции предсердий, оказывая влияние на электрофизиологические характеристики миокарда [7]. Предполагается, что снижение уровня микроРНК miR-1-3p в кардиомиоцитах предсердий способствует возникновению аритмий, так как

приводит к усилению экспрессии каналов Kir2.1 и, соответственно, калиевого ионного тока IK1 [8]. Чрезмерное повышение уровня miR-1-3p также может способствовать аритмогенезу, но уже за счет влияния на белки кальциевого круговорота в кардиомиоцитах [9]. Кроме того, изменение уровня miR-1-3p в кардиомиоцитах связывают с развитием сердечной недостаточности [10]. Также показано, что при моделировании сердечной недостаточности в ткани сердца существенно увеличивается уровень miR-153-3p [11]. Эта микроРНК регулирует аутофагию и апоптоз кардиомиоцитов при окислительном стрессе, который сопровождается целым рядом сердечных патологий [12].

В настоящее время активно разрабатываются подходы к терапии сердечно-сосудистых заболеваний на основе микроРНК [13], а также методы доставки микроРНК или их антагонистов в ткани в лабораторных и клинических условиях [14]. Однако крайне слабо исследована способность микроРНК, потенциально взаимодействующих с мРНК белков ионного транспорта, оказывать влияние на функционирование миокарда. В данной работе впервые проведено изучение эффектов трансфекции препаратов миокарда такими микроРНК, как miR-1-3p, miR-153-3p и miR-133a-3p, на их электрофизиологические параметры.

Материалы и методы

Половозрелые самцы крыс стока Wistar (250–300 г, возраст 10 нед.) были получены из питомника «Научный центр биомедицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства. Перед экспериментами животных содержали в виварии в стандартных условиях при световом режиме 12:12 с доступом к воде и пище *ad libitum*.

Эксперименты проводили с использованием изолированных многоклеточных препаратов правого предсердия (ПП, по одному препарату от 26 животных). Препараты выделяли таким образом, что они состояли из трабекуляризованного участка ПП и его ушка, а также гладкостенной зоны, включающей синоатриальный узел (САУ). Для получения препаратов животных декапитировали, вскрывали грудную клетку, извлекали сердце, промывали его физраствором и отделяли ПП, который затем помещали в перфузионную камеру (3 мл), закрепляли «эндокардиальной» стороной вверх и перфузировали при 37°C раствором Тироде следующего состава (мМ): NaCl–129, KCl–4, NaH₂PO₄·2H₂O–20,9, MgSO₄–0,5, NaHCO₃–20, CaCl₂·2H₂O–1,2, глюкоза–5. Раствор насыщали карбогеном (95% O₂, 5% CO₂), pH раствора составлял 7,4.

В ходе экспериментов регистрировали потенциалы действия (ПД) с помощью стандартной микроэлектродной техники. Для отведения ПД использовали стеклянные микроэлектроды (сопротивление – 15–30 МОм), подключенные к уси-

лителю (Model 1600 Neuroprobe Amplifier, A-M Systems, США). Сигнал от усилителя поступал на АЦП (Е-154, «Л Кард», Россия) и далее на компьютер для записи. Запись и анализ сигналов осуществляли с помощью программы «PowerGraph 3.3» («ДИСофт», Россия) и MiniAnalysis (Synaptosoft, США). При анализе оценивали длительность ПД на уровне 15%, 25%, 50% и 90% реполяризации (ДПД15%, ДПД25%, ДПД50%, ДПД90%). В течение всего эксперимента препараты работали в собственном ритме, определяемом активностью САУ (284±34 ПД/мин, n=26).

Эксперименты проводили по следующей схеме: после периода адаптации (30 мин) проводили контрольную запись (5 мин) электрической активности в одной из крупных продольных трабекул в основании ушка правого предсердия. Убедившись, что ПД имеют стабильный потенциал покоя, быстрый фронт и конфигурацию, типичную для рабочего миокарда, осуществляли внутритканевое введение микроРНК. Стеклянную микропипетку, закрепленную в микроманипуляторе и подключенную с помощью катетера (калибр – PE-10) к микроинъектору (PHD ULTRA™ 4400 Syringe Pump Infuse/Withdraw Programmable, Harvard Apparatus, США) вводили в толщу ткани и в течение 10 с вводили 5 мкл трансфицирующей смеси, содержащей микроРНК. Точечные инъекции повторяли 10 раз (всего 50 мкл) таким образом, чтобы площадь обработанного участка предсердного миокарда составляла 2 мм². Трансфицирующая смесь (50 мкл) содержала: липосомоформирующий трансфицирующий агент липофектамин (Lipofectamine RNAiMAX Transfection Reagent, Invitrogen, США, 7,5 мкл), одну из 3 микроРНК (Ambion, США, 0,5 мкл микроРНК с концентрацией 50 мкмоль/л) – rno-miR-1-3p (UGGAAUGUAAAGAAGUGUGUAU), mo-miR-133a-3p (UUUGGUCCCCUUCAACCAGCUG) или mo-miR-153-3p (UUGCAUAGUCACAAAAGUGAUC), 42 мкл раствора Тироде на основе очищенной от нуклеаз воды (Nuclease-free Water, Ambion, США). Концентрацию микроРНК контролировали с помощью микроспектрофотометра (NanoDrop 2000, Thermo Scientific, США), формирование липосом контролировали рефрактометрическим методом. Для подтверждения эффективности тканевой трансфекции использовали смесь липофектамина и спирализованного циклического вектора (pEGFP-N1), предназначенного для экспрессии зеленого флуоресцирующего белка (enhanced-GFP) в клетках млекопитающих, содержащего промотор раннего ответа на основе цитомегаловируса человека. Подтверждением эффективности трансфекции служило наличие зеленой флуоресценции с максимумом 510 нм при длине волны возбуждающего света 488 нм спустя 6–12 ч после обработки тканевых препаратов. Флуоресценцию выявляли, используя конфокальный микроскоп

Zeiss LSM700 (Carl Zeiss, Германия). После введения микроРНК электрическую активность регистрировали в области инъекции через 2, 4 и 6 ч. В контрольных экспериментах препараты обрабатывали трансфицирующей смесью аналогичного состава, но не содержащей микроРНК.

Для статистической обработки результатов использовали программу GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, США). Статистически значимые различия между группами выявляли с помощью критерия ANOVA (с последующим применением апостериорных тестов для множественных сравнений в группах с повторными или независимыми измерениями после внесения поправки Даннета и предварительной проверки нормальности распределения в группах с помощью теста Шапиро-Уилка). Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего.

Результаты и обсуждение

В наших экспериментах характеристики ПД, регистрируемых в трабекулярной части правого предсердия при перфузии в течение 6 ч, оставались стабильными либо изменялись незначительно (рис. 1А–Г, рис. 2А). В начале эксперимента ДПД15%, ДПД25%, ДПД50% и ДПД90% составляли $2,8 \pm 0,4$, $5,9 \pm 0,7$, $7,5 \pm 1,6$ и $50,6 \pm 3,2$ мс ($n=5$), соответственно, но через 6 ч увеличивалась на $3,5 \pm 3,4$ ($p = 0,112$), $2,1 \pm 7,1$ ($p = 0,134$), $14,9 \pm 12,9$ ($p = 0,201$) и $21,5 \pm 22,1$ ($p = 0,118$) мс. Тенденцию к увеличению длительности ПД на уровне 90% реполяризации к 6-му часу перфузии можно связать с повышением уровня цитоплазматического кальция $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах, усилением активности Na^+/Ca^{2+} -обменника (NCX) и увеличением деполяризующей компоненты тока I_{NCX} , способствующей замедлению последней фазы реполяризации ПД у грызунов.

Нами впервые обнаружено, что обработка миокардиальной ткани предсердий крысы трансфицирующей смесью, содержащей липосомообразующий агент, но не содержащей микроРНК, приводит к устойчивому значимому пролонгированию реполяризации, в особенности на уровне ДПД90% (рис. 1А–Г, рис. 2Б). Разовая инъекция трансфицирующей смеси приводит к наибольшему увеличению ДПД90% на 4-й час эксперимента (до $83,4 \pm 13,2$ мс, $n = 5$, $p = 0,015$). Таким образом, липид-содержащие липосомообразующие агенты в миокардиальной ткани способны оказывать существенное влияние на параметры биоэлектрической активности и могут маскировать либо нивелировать эффекты регуляторных соединений. Причины удлинения ПД в предсердном миокарде при действии липосомальных агентов не вполне ясны. Как известно, при трансфекции часть липосом трансфицирующего агента сливается с плазматической мембраной клетки-мишени, при этом чужеродные липиды встраиваются в мембрану. Поэтому наблюдаемый эффект может быть обусловлен неспецифическим влиянием липосомообразующих агентов на физико-химические свойства мембран кардиомиоцитов – например, на их вязкость. Однако влияние на биоэлектрическую активность миокарда именно катионного липосомального агента, такого как липофектамин, может быть связано с его специфическим действием на ионные каналы мембраны. Известно, что для поддержания калиевых каналов входящего выпрямления Kir2.1/Kir2.2/Kir2.3 в открытом состоянии необходимо присутствие в мембране отрицательно заряженных фосфатидилинозитолбисфосфатов (PIP_2), которые взаимодействуют с положительно заряженными аминокислотами молекулы канала. Снижение концентрации PIP_2 в мембране приводит к закрыванию канала. Эти каналы проводят калиевый реполяризующий ионный ток входяще-

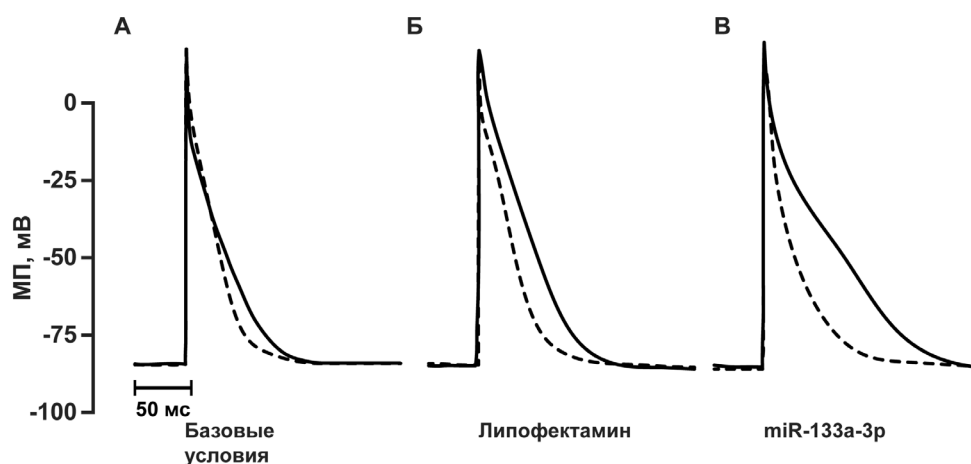


Рис. 1. Изменение конфигурации ПД (в течение 6 ч регистрации) препарата правого предсердия в базальных условиях (А), а также при действии трансфицирующей смеси без микроРНК («липофектамин», Б) и с добавлением miR-133a-3p (В). Пунктирной линией показана конфигурация ПД в базальных условиях, сплошной линией – конфигурация ПД по прошествии 6 ч с момента инъекции тканевых препаратов исследуемыми соединениями.

го выпрямления I_{K1} , который в кардиомиоцитах рабочего миокарда крыс обеспечивает поддержание потенциала покоя, а также участвует в реполяризации. Катионные липиды трансфицирующего агента могут образовывать комплексы с PIP2 в мембранах кардиомиоцитов, уменьшая таким образом их воздействие на $Kir2.x$ и приводя к подавлению реполяризующего тока I_{K1} . Снижение I_{K1} у крыс, в свою очередь, способствует увеличению длительности ПД, особенно в последнюю фазу реполяризации.

В наших экспериментах трансфекция тканевых препаратов ПП микроРНК miR-1-3p ($n = 5$), miR-153-3p ($n = 5$) и miR-133a-3p ($n = 6$) не приводила к большому увеличению ДПД15%, ДПД25% и ДПД50% (рис. 1А–Г), чем в случае их обработки смесью, содержащей только липосомобразующий агент.

В целом ряде работ было показано, что экспрессия каналов входящего выпрямления $Kir2.1$, отвечающих за поддержание потенциала покоя в рабочих кардиомиоцитах, находится под тесным контролем miR-1-3p [3, 15]. Как указано выше, изменение уровня экспрессии $Kir2.1$ сказывается на таком электрофизиологическом параметре, как ДПД90%. Тем не менее, в наших экспериментах мы не обнаружили сколь либо значимого изменения ДПД90% в рабочем миокарде предсердий при его трансфекции miR-1-3p. Спустя 6 ч после трансфекции miR-1-3p ДПД90% составляла $94,4 \pm 4,1$ мс, что не отличается значимо от ДПД90%, наблюдаемой после обработки ткани трансфицирующим агентом без микроРНК ($p = 0,571$). МикроРНК miR-153-3p также не влияла на длительность ПД: ДПД90% на 6-й ч после инъекции составляла $60,9 \pm 9,0$ мс, что не отлича-

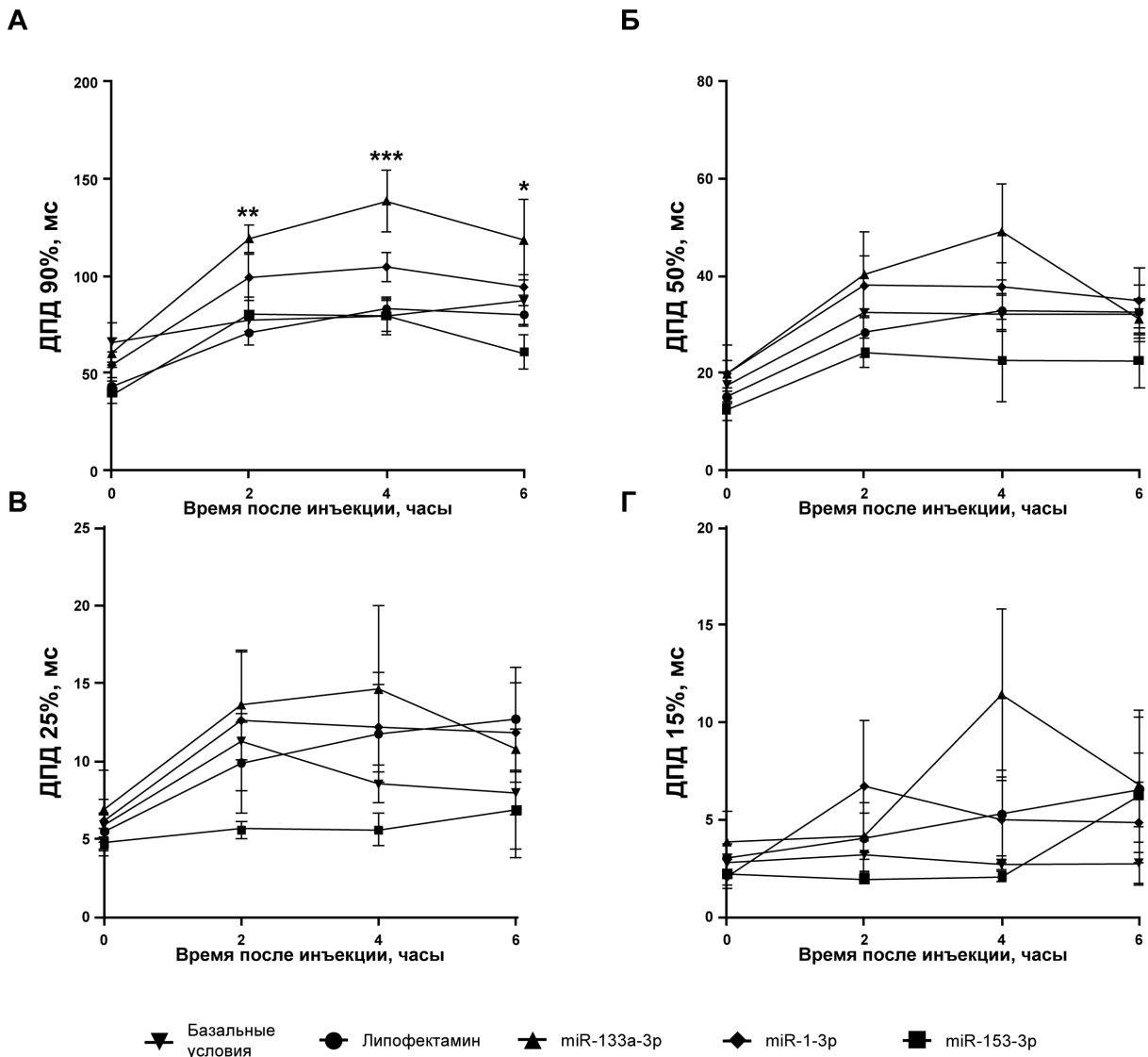


Рис. 2. Длительность ПД на уровне реполяризации 90% (А), 50% (Б), 25% (В) и 15% (Г) в препаратах ПП в базальных условиях (без добавления каких-либо веществ), а также при действии трансфицирующей смеси («липофектамин») без микроРНК и с добавлением микроРНК трех типов – miR-1-3p, miR-133a-3p и miR-153-3p. Нулевая точка соответствует значениям длительности ПД в базальных условиях до инъекции различных веществ. * – $p = 0,025$, ** – $p = 0,003$, *** – $p = 0,001$ – статистически значимое отличие в группе «miR-133-3p» против группы «липофектамин»; двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA.

ется значимо от ДПД90% ($p=0,534$) в контрольной группе (т.е. после обработки только трансфицирующим агентом).

В отличие от предыдущих двух микроРНК, miR-133a-3p оказывала существенное влияние на ДПД90%. В наших экспериментах увеличение ДПД90% начиная с 4-го часа после обработки тканевых препаратов miR-133a-3p было значимо больше ($p=0,001$), чем при обработке только трансфицирующим агентом (рис. 1А, рис. 2А). Через 4 ч после трансфекции miR-133a-3p значение ДПД90% достигало $138,4 \pm 15,9$ мс (рис. 1).

При анализе возможных способов реализации эффектов микроРНК, основанном на поиске их мишеней с помощью аналитической системы DIANA-miRPath (v.3) [16], базы данных KEGG [17], баз данных Targetscan [18] и Tarbase [19] установлено, что высока вероятность взаимодействия miR-133a-3p с мРНК ряда протеинфосфатаз. Постранскрипционный сайленсинг протеинфосфатаз в кардиомиоцитах может приводить к потенцированию эффектов протеинкиназ, таких как протеинкиназа А, а именно к увеличению выброса кальция из саркоплазматического ретикулума и увеличению уровня $[Ca^{2+}]_i$. Как указано выше, у грызунов повышение уровня

$[Ca^{2+}]_i$ приводит к пролонгированию ПД за счет стимуляции деполяризующей компоненты тока I_{NCX} , чем и может быть объяснен наблюдаемый эффект miR-133a-3p.

Таким образом, липотрансфекция приводит к заметным изменениям биоэлектрической активности миокардиальной ткани; эти изменения могут быть обусловлены эффектами липосомальных агентов в мембране кардиомиоцитов. Несмотря на то, что целому ряду микроРНК уделяется в настоящее время большое внимание как регуляторным молекулам в сердце, в наших экспериментах специфическое влияние на электрофизиологические параметры оказывала только одна из трех протестированных молекул, а именно miR-133a-3p. Несомненно, роль miR-133a-3p как вероятной эндогенной регуляторной молекулы в сердце, а также выявление ее мишеней *in vivo* остаются предметом дальнейших исследований.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00163).

Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными, установленными Комиссией по биоэтике МГУ. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Romaine S.P.R., Tomaszewski M., Condorelli G., Samani N.J. MicroRNAs in cardiovascular disease: an introduction for clinicians // Heart. 2015. Vol. 101. N 12. P. 921–928.
- D'Souza A., Pearman C.M., Wang Y., et al. Targeting miR-423-5p Reverses exercise training-induced hcn4 channel remodeling and sinus bradycardia // Circ. Res. 2017. Vol. 121. N 9. P. 1058–1068.
- Yan B., Wang H., Tan Y., Fu W. microRNAs in cardiovascular disease: small molecules but big roles // Curr. Top. Med. Chem. 2019. Vol. 19. N 21. P. 1918–1947.
- Koroleva I.A., Nazarenko M.S., Kucher A.N. Role of microRNA in development of instability of atherosclerotic plaques // Biochem. 2017. Vol. 82. N 11. P. 1380–1390.
- Кучер А.Н., Назаренко М.С. Роль микро-РНК при атерогенезе // Кардиол. 2017. Т. 57. № 9. С. 65–76.
- Baulina N., Osmak G., Kiselev I., Matveeva N., Kukava N., Shakhnovich R., Kulakova O., Favorova O. NGS-identified circulating miR-375 as a potential regulating component of myocardial infarction associated network // J. Mol. Cell. Cardiol. 2018. Vol. 121. P. 173–179.
- Cheng W.L., Kao Y.H., Chao T.F., Lin Y.K., Chen S.A., Chen Y.J. MicroRNA-133 suppresses ZFH3-dependent atrial remodelling and arrhythmia // Acta Physiol. 2019. Vol. 227. N 3: e13322.
- Girmatsion Z., Biliczki P., Bonauer A., Wimmer-Greinecker G., Scherer M., Moritz A., Bukowska A., Goette A., Nattel S., Hohnloser S.H., Ehrlich J.R. Changes in microRNA-1 expression and IK1 up-regulation in human atrial fibrillation // Heart Rhythm. 2009. Vol. 6. N 12. P. 1802–1809.
- Terentyev D., Belevych A. E., Terentyeva R., Martin M.M., Malana G.E., Kuhn D.E. Abdellatif M., Feldman D.S., Elton T.S., Györke S. miR-1 overexpression enhances Ca^{2+} release and promotes cardiac arrhythmogenesis by targeting PP2A regulatory subunit B56 alpha and causing CaMKII-dependent hyperphosphorylation of RyR2 // Circ. Res. 2009. Vol. 104. N 4. P. 514–521.
- Kumarswamy R., Lyon A.R., Volkmann I., Mills A.M., Bretthauer J., Pahuja A., Geers-Knorr C., Kraft T., Hajar R.J., Macleod K.T., Harding S.E., Thum T. SERCA2a gene therapy restores microRNA-1 expression in heart failure via an Akt/FoxO3A-dependent pathway // Eur. Heart J. 2012. Vol. 33. N 9. P. 1067–1075.
- Condorelli G., Latronico M.V.G., Dorn G.W. 2nd. microRNAs in heart disease: putative novel therapeutic targets? // Eur. Heart. J. 2010. Vol. 31. N 6. P. 649–658.
- Zou Y., Liu W., Zhang J., Xiang D. miR-153 regulates apoptosis and autophagy of cardiomyocytes by targeting Mcl-1 // Mol. Med. Rep. 2016. Vol. 14. N 1. P. 1033–1039.
- Michell D.L., Vickers K.C. HDL and microRNA therapeutics in cardiovascular disease // Pharmacol. Ther. 2016. Vol. 168. P. 43–52.
- Zhang Y., Wang Z., Gemeinhart R.A. Progress in microRNA delivery // J. Control Release. 2013. Vol. 172. N 3. P. 962–974.
- Yang B.F., Lin H.X., Xiao J.N., Lu Y., Luo X., Li B., Zhang Y., Xu C., Bai Y., Wang H., Chen G., Wang Z. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2 // Nat. Med. 2007. Vol. 13. N 4. P. 486–491.
- Diana Tools mirPath v.3 [Электронный ресурс]. 2019. Дата обновления: 2019. URL: <http://snf-515788.vm.okeanos.grnet.gr/> (дата обращения: 25.10.2019).

17. *KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* [Электронный ресурс]. 2019. Дата обновления: 2019. URL: <https://www.genome.jp/kegg/> (дата обращения: 25.10.2019).

18. *TargetScan Release 7.2* [Электронный ресурс]. 2018. Дата обновления: 2018. URL: http://www.targetscan.org/vert_72/ (дата обращения: 25.10.2019).

19. *Diana Tools TarBase v.8* [Электронный ресурс]. 2019. Дата обновления: 2019. URL: http://carolina.imis.athena-innovation.gr/diana_tools/web/index.php?r=tarbasev8%2Findex (дата обращения: 25.10.2019).

[athena-innovation.gr/diana_tools/web/index.php?r=tarbasev8%2Findex](http://carolina.imis.athena-innovation.gr/diana_tools/web/index.php?r=tarbasev8%2Findex) (дата обращения: 25.10.2019).

Поступила в редакцию
29.10.2019 г.

После доработки
19.11.2019 г.

Принята в печать
27.01.2020 г.

RESEARCH ARTICLE

LIPOTRANSFECTION OF MIR-1-3P, MIR-133A-3P AND MIR-153-3P CHANGES THE ELECTROPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF RAT WORKING MYOCARDIUM

V.S. Kuzmin^{1,2}, A.D. Ivanova^{1,*}, K.B. Pustovit^{1,2}, D.V. Abramochkin^{1,2}

¹*Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;*

²*Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russia*

*e-mail: ashka@yandex.ru

MicroRNAs (miR) are small single-stranded ribonucleotide sequences, which regulate gene expression at the post-transcriptional level. It has been shown that some miRs play a key role in cardiovascular physiology and pathophysiology. In this work the effects of lipotransfection of miR-1-3p, miR-133a-3p and miR-153-3p on electrophysiological parameters of myocardial tissue were studied for the first time. Action potentials (AP) were recorded in multicellular Tyrode-perfused rat atria preparations after the injection of transfection mixture consisting of lipofectamine and miR-1-3p, miR-133a-3p or miR-153-3p with the usage of microelectrode technique. It was shown that treatment of myocardial tissue with transfection mixture itself leads to a prolongation of AP repolarization phase. Herewith, miR-1-3p, miR-153-3p did not cause a significant change in AP configuration within 6 hrs after the injection in tissue preparations compared to the injection of transfection mixture free of miRs. At the same time, miR-133a-3p caused a significant increase in AP duration at the level of 90% repolarization and the effect was maximal 4 hrs after transfection. Based on the bioinformatic search and analysis of possible miR-133a-3p targets, it was suggested that this miR can interact with the mRNA of a number of protein phosphatases. A suppression of protein phosphatase expression in cardiomyocytes may underlie the observed increase in AP duration under the action of miR-133a-3p due to the affection of proteins involved in calcium dynamics.

Keywords: *action potential, bioelectric activity, atrial myocardium, transfection, microRNA, silencing, RNA interference*

Сведения об авторах

Кузьмин Владислав Стефанович – канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных, биологического факультета МГУ; вед. науч. сотр. кафедры физиологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: ku290381@mail.ru

Иванова Александра Дмитриевна – асп. кафедры физиологии человека и животных, биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: ashka02@yandex.ru

Пустовит Ксения Борисовна – канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных, биологического факультета МГУ; науч. сотр. кафедры физиологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: k_pustovit@mail.ru

Абрамочкин Денис Валерьевич – докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных, биологического факультета МГУ; вед. науч. сотр. кафедры физиологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: abram340@mail.ru