

## ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ АТФ-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ ПИАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ КРЫС

© 2022 г. О. П. Горшкова

*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*e-mail: o\_gorshkova@inbox.ru*

Поступила в редакцию 27.09.2021 г.

После доработки 08.12.2021 г.

Принята к публикации 10.12.2021 г.

АТФ-чувствительные калиевые каналы ( $K_{ATP}$ ) играют значительную роль в сосудистой регуляции. Благодаря нуклеотидной чувствительности они могут выступать в качестве датчиков метаболического состояния клетки и регулировать мембранный потенциал в ответ на изменение ее энергообеспечения. Старение сопровождается нарушениями церебрального энергетического обмена на всех уровнях, что может влиять на функциональную активность  $K_{ATP}$ -каналов. Однако данные о возрастных изменениях функциональной активности  $K_{ATP}$ -каналов в сосудах головного мозга немногочисленны и противоречивы. В работе исследовались возрастные особенности изменения вклада  $K_{ATP}$ -каналов в поддержание базального тонуса и осуществление опосредованной ацетилхолином (АХ) дилатации пиальных артериальных сосудов крыс. С использованием метода прижизненной микрофотосъемки оценивали реакции пиальных артерий у крыс Wistar в возрасте 4 и 18 мес. Об изменении вклада  $K_{ATP}$ -каналов в поддержание базального тонуса судили по изменению числа сосудов, сузившихся в ответ на воздействие блокатора  $K_{ATP}$ -каналов (глибенкламид, 10 мкМ). Изменение вклада каналов в АХ-опосредованную дилатацию сосудов оценивали путем сравнения числа и степени дилатации артерий в ответ на действие ацетилхолин хлорида (АХ,  $10^{-7}$  М, 5 мин) до и после применения блокатора  $K_{ATP}$ -каналов. Установлено, что старение сопровождается снижением вклада  $K_{ATP}$ -каналов в поддержание базального тонуса пиальных артериальных сосудов. Также с возрастом снижается функциональная активность АТФ-чувствительных калиевых каналов в дилатацию сосудов, и у 18-месячных крыс они практически не участвуют в осуществлении дилататорных реакций на воздействие АХ.

**Ключевые слова:** АТФ-чувствительные калиевые каналы, старение, АХ-опосредованная вазодилатация, пиальные артериальные сосуды

**DOI:** 10.31857/S0044452922020048

Старение организма – это физиологический процесс, механизмы которого остаются не до конца ясными. Одной из основных мишеней процесса старения является головной мозг. Возрастные изменения в мозге сопровождаются ухудшением его кровоснабжения, связанным с прогрессирующим изменением структуры и/или функционирования сосудов. Важнейшими элементами, обеспечивающими нормальное функционирование сосудистой сети, являются ионные каналы [1, 2]. Значительную роль в регуляции тонуса мозговых сосудов играют АТФ-чувствительные калиевые каналы ( $K_{ATP}$ ), экспрессируемые как в эндотелиальных, так и в сосудах гладкомышечных клетках [1–4]. Их активация вызывает гиперполяризацию сосудистых миоцитов и вазодилатацию [2, 5]. Благодаря нуклеотидной чувствительности эти каналы могут выступать в качестве датчиков метаболического

состояния клетки и регулировать мембранный потенциал в ответ на изменения ее энергообеспечения. С возрастом уменьшается сопряжение между мозговым кровотоком и метаболизмом глюкозы, снижаются уровни тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, а также внутриклеточный рН в мозге, что характеризует изменения церебрального энергетического обмена на всех уровнях [6]. Это может влиять на функциональное состояние  $K_{ATP}$ -каналов. Однако данные о возрастных изменениях числа и функциональной активности  $K_{ATP}$ -каналов немногочисленны и весьма противоречивы. С одной стороны имеются сведения об уменьшении числа  $K_{ATP}$ -каналов и снижении их функциональной активности в аорте, головном мозге, сосудах брыжейки и скелетных мышц у крыс [2, 7]. В то же время есть сведения, что функциональная роль  $K_{ATP}$ -каналов с возрас-

том увеличивается [8]. Целью данной работы было исследование возрастных изменений вклада  $K_{AT\Phi}$ -каналов гладкомышечных клеток в регуляцию тонуса церебральных артерий. В задачи исследования входило сравнение вклада  $K_{AT\Phi}$ -каналов в поддержание базального тонуса и осуществление опосредованной ацетилхолином (АХ) дилатации пиальных артериальных сосудов у крыс Wistar в возрасте 4 и 18 мес.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на самцах крыс Wistar из ЦКП “Биоколлекция ИФ РАН” в возрасте 4 ( $n = 11$ , массой  $280 \pm 40$  г) и 18 мес ( $n = 12$ , массой  $350 \pm 50$  г). Работа выполнена в соответствии с “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных”, принятыми Европейской конвенцией 19.07.2014 г., и требованиями Комиссии по контролю над содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Для проведения прижизненного исследования реакций пиальных артерий крыс наркотизировали золетиллом (внутрибрюшинно, 20 мг/кг, Virbac, Франция). В теменной области черепа животного высверливалось отверстие ( $S \approx 1$  см<sup>2</sup>), твердая мозговая оболочка в пределах отверстия удалялась, тем самым открывая поле для дальнейшего исследования. Поверхность мозга непрерывно орошалась раствором Кребса (в мМ: NaCl 120.4; KCl 5.9; NaHCO<sub>3</sub> 15.5; MgCl<sub>2</sub> 1.2; CaCl<sub>2</sub> 2.5; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2; глюкоза 11.5; pH 7.4), аэрированного карбогеном. Раствор для орошения, как и все другие применяемые растворы, в течение всего эксперимента содержался в водяном термостате (TW-2, SIA “ELMI”, Латвия) при температуре +37°C. Визуализация пиальных артерий проводилась с помощью оригинальной установки, включающей в себя стереоскопический микроскоп MC-2ZOOM (“Микромед”, Россия), цветную камеру-видеоокуляр для микроскопа Basler acA 4600 – 10uc (Германия) и персональный компьютер.

На протяжении всего эксперимента у животных контролировали среднее АД. Прямое измерение АД производилось через катетер в бедренной артерии, соединенный с датчиком DTXPlus™ (Argon Critical Care Systems, Сингапур, <https://www.argon-medical.com>), подключенным к АЦП, входящему в состав микроконтроллера фирмы STMicroelectronics (США, <https://www.st.com>), выход которого был подключен к компьютеру через порт USB. Для работы устройства с компьютером в нашей лаборатории была разработана оригинальная программа визуализации значений АД. Расчет среднего АД в реальном времени производился программой по классической формуле:

$$P_{cp} = P_d + 1/3(P_c - P_d), \text{ где}$$

$P_{cp}$  – среднее артериальное давление (мм рт.ст.),  $P_c$  – систолическое давление (мм рт.ст.),  $P_d$  – диастолическое давление (мм рт.ст.).

В течение всего эксперимента показатели среднего АД оставались примерно на одном уровне и у крыс в возрасте 4 мес составляли  $125 \pm 5$  мм рт.ст., а в возрасте 18 мес –  $122 \pm 4$  мм рт.ст.

Температура тела животного поддерживалась на уровне +38°C.

При проведении эксперимента крысы разделялись на 4 отдельные группы. У первых 2 групп: крысы в возрасте 4 мес ( $n = 6$ ) и крысы в возрасте 18 мес ( $n = 6$ ), исследовали реакции сосудов на орошение поверхности головного мозга раствором ацетилхолин хлорида (Acetylcholine chloride, Sigma-Aldrich,  $10^{-7}$  М [9], 8 мин). После чего поверхность головного мозга в течение 15 мин отмывалась раствором Кребса. Предварительные эксперименты показали, что этого времени достаточно для полной отмывки и достижения размеров исследуемых сосудов исходных значений. В дальнейшем эксперимент продолжался на фоне блокады  $K_{AT\Phi}$ -каналов раствором глибенкламида (Glybenclamide, Sigma-Aldrich, 10 мкМ, в растворе диметилсульфоксида (DMSO)). Проводилось предварительное орошение поверхности мозга раствором глибенкламида в течение 10 мин с последующим добавлением АХ в раствор блокатора. Концентрация DMSO в применяемых растворах глибенкламида, составляющая не более 0.1%, не оказывала влияние на тонус церебральных артерий [10]. В 2 других группах: крысы в возрасте 4 мес ( $n = 5$ ) и крысы в возрасте 18 мес ( $n = 6$ ), исследовали реакции сосудов на воздействие активатора АТФ-чувствительных калиевых каналов – пинацидила (Pinacidil monohydrate, Sigma Aldrich, 200 мкМ, в растворе DMSO). Для активации каналов поверхность мозга в течение 5 мин предварительно орошали раствором пинацидила. Фоновую реакцию на воздействие АХ в каждой группе анализировали по всему массиву сосудов и принимали за 100%. Проверка по критерию Краскела–Уоллиса показала отсутствие значимых различий между отдельными животными в фоновых реакциях на воздействие АХ внутри каждой из исследованных групп. Общая продолжительность эксперимента составляла 40–80 мин, после чего животных усыпляли передозировкой раствора золетила (60 мг/кг).

Диаметр сосудов измеряли на статических изображениях с помощью компьютерной программы для цитофотометрии “Photo M 1.21” (авторская разработка А. Черниговского, [http://www.t\\_lambda.chat.ru](http://www.t_lambda.chat.ru)). В программе предусмотрен режим увеличения изображения и калибровки для пересчета всех координат в метрические единицы. С использованием программы измерялась ширина потока эритроцитов, соответствующая внутреннему диаметру сосуда. Об изменении вклада  $K_{AT\Phi}$ -каналов в

поддержание базального тонуса сосудов судили по изменению числа сосудов, сузившихся в ответ на воздействие блокатора  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламида. Изменение вклада каналов в дилатации сосудов оценивали путем сравнения числа дилатированных сосудов и степени их дилатации в ответ на воздействие АХ до и после применения блокатора.

Изменение количества расширившихся и сузившихся сосудов на воздействие выражалось в процентах относительно общего числа исследованных сосудов в группе. Степень дилатации  $\Delta D$  оценивали как разность между значениями диаметра после ( $D_2$ ) и до ( $D_1$ ) воздействия АХ относительно диаметра сосуда  $D_1$  перед воздействием АХ, %:

$$\Delta D = (D_2 - D_1) / D_1 * 100.$$

Изменения диаметра в покое не превышали  $5.0 \pm 0.5\%$ , поэтому при таких значениях считали, что реакция на воздействие отсутствует.

Проведено измерение 845 участков пиальных артериальных сосудов диаметром от 8 до 79 мкм у крыс в возрасте 4 мес и 634 участка — у 18-месячных крыс (диаметр от 10 до 69 мкм). У каждой крысы было измерено от 30 до 100 участков сосудов. В литературе имеются сведения о том, что распределение АТФ-чувствительных калиевых каналов в сосудах головного мозга неоднородно и варьируется в зависимости от размера сосудов [12, 13]. Поэтому для последующего анализа измеренные участки сосудов были разделены на группы в соответствии с их диаметрами: мелкие (диаметром до 20 мкм), среднего диаметра (от 20 до 40 мкм) и крупные (диаметром более 40 мкм). Данные по отдельной группе сосудов усреднялись для каждого животного и использовались для статистических сравнений.

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel 2019 и программы InStat 3.02 ("GraphPad Software Inc.", США). Данные представлены в виде среднего арифметического значения и его ошибки. При сравнении 2 групп использовали  $U$ -критерий Манна–Уитни. Сравнение средних данных независимых выборок при сравнении более 2 групп при нормальном характере распределения вариант в совокупности данных (выборке) проводили при помощи дисперсионного анализа с последующим попарным сравнением групп согласно критерию Тьюки. При распределении варианта в выборке, отличном от нормального, при сравнении групп применяли критерий Краскела–Уоллиса с последующим попарным сравнением групп согласно критерию Данна.

Достоверным уровнем отличий считали вероятность не менее 95% ( $p < 0.05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс в возрасте 4 мес АХ вызывал дилатацию в среднем около 50% исследованных пиальных артериальных сосудов. Наибольшее число расширившихся сосудов (в среднем 68.8%) отмечалось в группе мелких сосудов диаметром менее 20 мкм (рис. 1).

Аппликация глибенкламида у 4-месячных животных вызывала констрикцию сосудов всех исследованных диаметров в среднем около 50% (рис. 2). В группе артерий мелких диаметров сузилось  $56.9 \pm 1.9\%$  сосудов, а в других группах — в среднем около 45%. Число АХ-опосредованных дилататорных реакций сосудов всех исследованных групп на фоне предварительного применения глибенкламида достоверно снижалось. Наибольшее снижение числа дилатаций (на 79.4%) отмечено в группе мелких артериальных сосудов ( $p < 0.001$ ,  $U$ -критерий Манна–Уитни), в остальных группах число дилатаций уменьшилось в среднем в 2 раза ( $p < 0.001$ ,  $U$ -критерий Манна–Уитни, рис. 1). В группах артерий мелких диаметров также достоверно снижалась степень дилататорной реакции на воздействие АХ (в среднем на 42.8%).

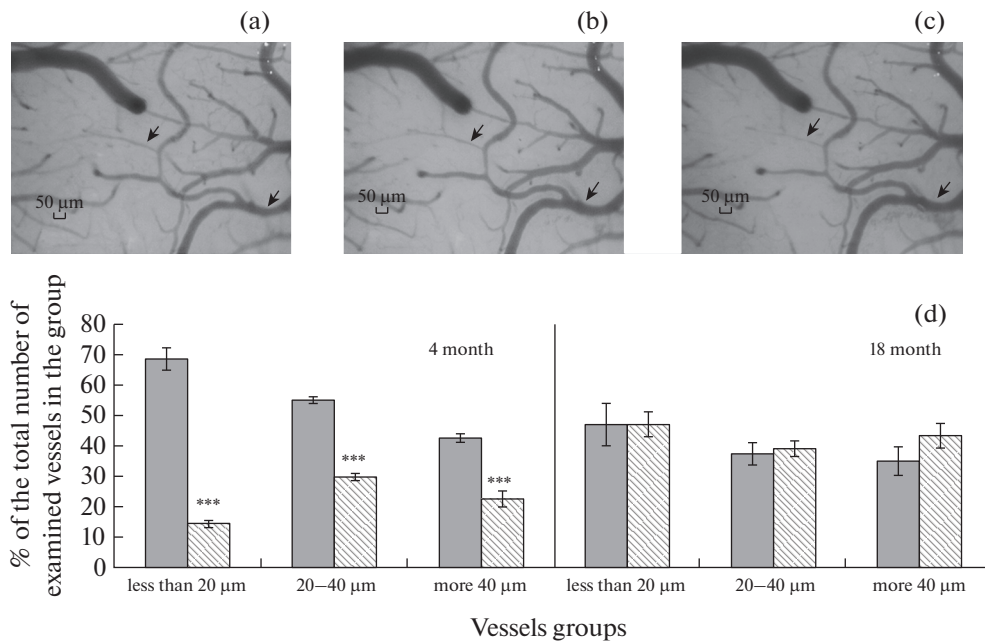
Применение пинацидила у 4-месячных крыс приводило к дилатации  $83.7 \pm 2.1\%$  мелких сосудов. С увеличением диаметра сосудов число дилатаций на воздействие пинацидила достоверно снижалось ( $p < 0.001$ ,  $KW = 19.1$ , критерий Краскела–Уоллиса) и в группе крупных артерий составило  $58.6 \pm 2.5\%$  (рис. 3).

У крыс в возрасте 18 мес в ответ на воздействие АХ расширилось только около 40% артериальных сосудов всех исследованных диаметров (рис. 1). Аппликация глибенкламида приводила к констрикции в среднем около 30% сосудов всех исследованных групп (рис. 2). Число АХ-опосредованных дилатаций на фоне предварительного введения глибенкламида достоверно не изменялось (рис. 1).

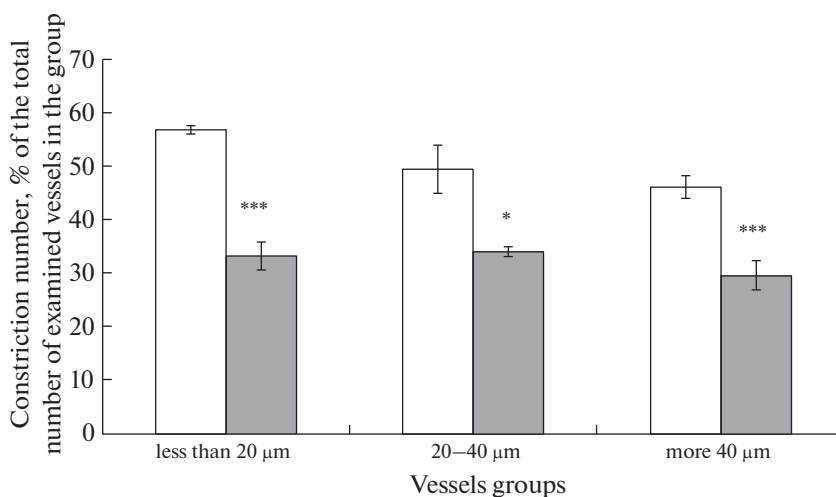
Пинацидил у крыс в возрасте 18 мес расширял  $55.1 \pm 4.9\%$  сосудов мелких диаметров. С увеличением диаметра сосудов число дилатаций достоверно снижалось ( $p < 0.001$ ,  $KW = 18.5$ , критерий Краскела–Уоллиса) и в группе крупных артерий составило  $27.5 \pm 0.9\%$  (рис. 3).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Активация АТФ-чувствительных калиевых каналов является важным механизмом, обеспечивающим дилатацию мозговых сосудов [2, 14]. Вопрос участия эти каналов в АХ-опосредованных реакциях остается не до конца изученным. Дилататорный эффект АХ обеспечивается эндотелиальными мускариновыми рецепторами, которые активируют  $Ca^{2+}$ -опосредованный синтез эндогенных вазодилаторов (NO, простагландины, аденозин и др.)



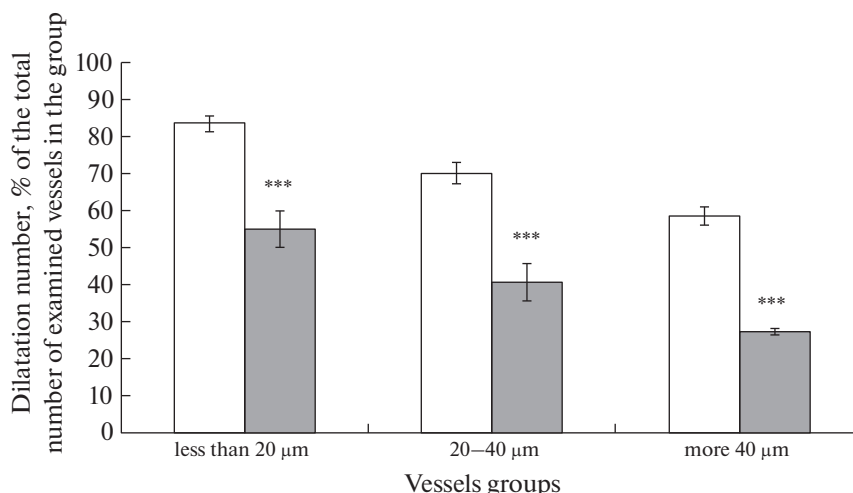
**Рис. 1.** Дилататорная реакция пиальных артериальных сосудов различных диаметров на воздействие АХ. Микрофотографии пиальных сосудов крыс в возрасте 4 мес, ×140: (а) – исходное состояние; (б) – реакция на орошение поверхности головного мозга раствором АХ ( $10^{-7}$  М, 8 мин); (с) – реакция на орошение поверхности головного мозга раствором АХ ( $10^{-7}$  М, 8 мин) на фоне предварительного воздействия глибенкламида (10 мкМ, 10 мин). Стрелками указан артериальный участок пиальной сосудистой сети. (d) – число дилатаций у крыс в возрасте 4 и 18 мес (% от общего числа исследованных сосудов в группе). *Сплошная заливка* – реакция на АХ; *косая штриховка* – реакция на АХ на фоне предварительного введения глибенкламида. \*\*\* – различия по сравнению с соответствующими значениями без применения глибенкламида статистически значимы при  $p < 0.001$  ( $U$ -критерий Манна–Уитни).



**Рис. 2.** Констрикторная реакция пиальных артериальных сосудов различных диаметров на воздействие глибенкламида. *Белая заливка* – крысы в возрасте 4 мес; *серая заливка* – крысы в возрасте 18 мес. \* – различия по сравнению с соответствующими значениями у крыс в возрасте 4 месяцев статистически значимы при  $p < 0.05$ ; \*\*\*  $p < 0.001$  ( $U$ -критерий Манна–Уитни).

[15]. Предполагается, что эндогенные вазодилататоры, воздействуя на эндотелиальную стенку, могут модулировать сигнальный каскад, включающий в себя протеинкиназы А и/или G, и активировать  $K_{ATP}$ -каналы, расположенные в эндотелии и

гладкомышечных клетках сосудов [16, 17]. В ходе данного исследования, а также в наших предыдущих экспериментах [13] было показано, что вызванная воздействием АХ дилатация пиальных артериальных сосудов с возрастом снижается. Воз-



**Рис. 3.** Дилататорная реакция пиальных артериальных сосудов различных диаметров на воздействие пинацидила. *Белая заливка* – крысы в возрасте 4 мес; *серая заливка* – крысы в возрасте 18 мес. \*\*\* – различия по сравнению с соответствующими значениями у крыс в возрасте 4 мес статистически значимы при  $p < 0.001$  ( $U$ -критерий Манна–Уитни).

никновение сосудистой дисфункции при старении может быть связано с нарушением активности  $K_{ATФ}$ -каналов.

Применение в наших экспериментах селективного блокатора  $K_{ATФ}$ -каналов – глибенкламида у крыс в возрасте 4 мес вызывало констрикцию примерно половины исследованных сосудов всех диаметров. Число АХ–опосредованных дилатаций сосудов, предварительно подвергнутых воздействию глибенкламида, в группах артерий всех диаметров достоверно снижалось. Причем наибольшее снижение было отмечено в группе артерий мелких диаметров. В этой группе также достоверно снижалась и степень дилатации. Следовательно, можно утверждать, что у молодых крыс  $K_{ATФ}$ -каналы участвуют в поддержании базального тонуса и обеспечении дилататорных реакций пиальных артерий на воздействие АХ. Однако в литературе имеются данные, как подтверждающие участие  $K_{ATФ}$ -каналов в поддержании тонуса и дилатации мозговых артерий [2, 11, 18], так и противоречащие им [2, 19]. Причина получения столь противоречивых результатов может быть связана с региональной и видовой изменчивостью в структуре и экспрессии  $K_{ATФ}$ -каналов, а также механизмах, которые модулируют эти каналы [1, 11, 12]. Нельзя исключить и того, что причина появления различных выводов может быть связана с особенностями методических подходов, использованных авторами при проведении экспериментов.

Изменения АХ–опосредованных дилатаций на фоне применения глибенкламида, а также реакции на сам блокатор были наиболее выражены у пиальных артерий диаметром менее 20 мкм. Это может быть связано с тем, что  $K_{ATФ}$ -каналы в разной степени представлены в мелких и крупных пиальных

артериальных сосудах. Согласно исследованиям, проведенным в последнее десятилетие, известно, что мелкие пиальные артерии снабжены дополнительными сигнальными механизмами, направленными на обнаружение нейронной активности и передачу сигнала к гладкомышечным клеткам, лежащим выше по течению более крупных пиальных артериальных сосудов [20–22]. Одним из основных компонентов этого сигнального механизма являются АТФ–чувствительные калиевые каналы [20]. Вероятно, это является причиной увеличения плотности  $K_{ATФ}$ -каналов в стенке мелких пиальных артерий, по сравнению с более крупными сосудами. Косвенным доказательством чего могут служить различия в реакциях пиальных артериальных сосудов разных диаметров на пинацидил, являющийся открывателем  $K_{ATФ}$ -каналов, снижающий чувствительность каналов к АТФ и приводящий к увеличению их открытия при существующем уровне АТФ в клетке [23]. В наших экспериментах с увеличением диаметра сосудов число дилатаций на воздействие пинацидила достоверно снижалось.

При сравнении реакций у животных разного возраста было установлено, что у 18-месячных крыс, по сравнению с более молодыми животными, число констрикторных реакций на аппликацию глибенкламида в группах сосудов всех исследованных диаметров меньше в среднем на 30–40%. Имеются сведения о том, что с возрастом  $K_{ATФ}$ -каналы становятся более чувствительными к АТФ и даже при физиологических концентрациях АТФ они легко закрываются, что может снижать их чувствительность к биологическим агентам [7]. Уменьшение числа сузившихся на воздействие глибенкламида сосудов у крыс более старшего воз-

раста также может быть связано и со снижением плотности  $K_{ATP}$ -каналов. У крыс в возрасте 18 мес, по сравнению с более молодыми животными, открыватель  $K_{ATP}$ -каналов пинацидил, вызывал расширение в среднем на 30–50% меньшего числа сосудов всех исследованных диаметров.

Число и степень АХ-опосредованных дилатаций пиальных артериальных сосудов всех исследованных диаметров, на фоне предварительного введения глибенкламида, у 18-месячных крыс достоверно не изменялись. Поскольку ключевым физиологическим регулятором активности  $K_{ATP}$ -каналов является уровень внутриклеточных нуклеотидов, и в частности Mg-АДФ [23], одной из причин возрастного нарушения вклада  $K_{ATP}$ -каналов в дилатацию сосудов могут являться связанные с возрастом уменьшение продукции АТФ и нарушение соотношения АТФ/АДФ [7, 9], а также нарушение гомеостаза Mg [24]. Снижению активности каналов могут способствовать и другие процессы, сопровождающие старение: клеточный ацидоз, оксидативный стресс, изменение продукции аденозина [6, 25, 26].

Таким образом, данные, полученные в настоящем исследовании, свидетельствуют о том, что старение сопровождается снижением вклада  $K_{ATP}$ -каналов в поддержание базального тонуса пиальных артерий. Также с возрастом снижается вклад АТФ-чувствительных калиевых каналов в дилатацию. И у 18-месячных крыс эти каналы практически не участвуют в осуществлении АХ-опосредованных дилататорных реакций пиальных артерий.  $K_{ATP}$ -каналы играют значительную роль в регуляции сосудистого тонуса и поддержании нормальной мозговой перфузии [27]. Поэтому сопровождающие старение нарушения процессов  $K_{ATP}$ -сигнализации могут играть решающее значение в возникновении возрастных изменений реакций сосудов, лежащих в основе сосудистых поражений головного мозга.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Источник финансирования – госбюджет. Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП “Научно-технологическое развитие Российской Федерации” (2019-2030), тема 0134-2019-0001.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Конфликта интересов относительно публикации этой статьи не существует.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

Планирование эксперимента, сбор и обработка данных, написание и редактирование статьи выполнены автором лично.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Huang Y, Hu D, Huang C, Nichols CG (2019) Genetic discovery of ATP-sensitive  $K^+$  channels in cardiovascular diseases. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 12 (5): e007322. <https://doi.org/10.1161/CIRCEP.119.007322>
- Tykocki NR, Boerman EM, Jackson WF. (2017) Smooth muscle ion channels and regulation of vascular tone in resistance. *Arteries and Arterioles. Compr Physiol* 7 (2): 485–581. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160011>
- Syed AU, Koide M, Brayden JE, Wellman GC (2019) Tonic regulation of middle meningeal artery diameter by ATP-sensitive potassium channels. *J Cereb Blood Flow Metab* 39 (4): 670–679. <https://doi.org/10.1177/0271678X17749392>
- Li Y, Aziz Q, Anderson N, Ojake L, Tinker A (2020) Endothelial ATP-sensitive potassium channel protects against the development of hypertension and atherosclerosis. *Hypertension* 76 (3): 776–784. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONA-NA.120.15355>
- Armstead WM, Riley J, Cines DB, Higazi AA-R (2011) tPA contributes to impairment of ATP and Ca sensitive K channel mediated cerebrovasodilation after hypoxia/ischemia through upregulation of ERK MAPK. *Brain Res* 1376: 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.12.052>
- Gribanov AV, Джос ЮС, Дерябина ИН, Денутат ИС, Емельянова ТВ (2017) Старение головного мозга человека: морфофункциональные аспекты. *Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова* 117 (1–2): 3–7. [Gribanov AV, Dzhos YUS, Deryabina IN, Deputat IS, Yemelianova TV (2017) An aging brain: morphofunctional aspects. *J Neurology and Psychiatry* 117 (1–2): 3–7 (In Russ)]. <https://doi.org/10.17116/jnevro2017117123-7>
- Yang HQ, Subbotina E, Ramasamy R, Coetzee WA (2016) Cardiovascular  $K_{ATP}$  channels and advanced aging. *Pathobiol Aging Age Relat Dis* 6: 32517. <https://doi.org/10.3402/pba.v6.32517>
- Shvetsova AA, Gaynullina DK, Tarasova OS, Schubert R (2021) Remodeling of arterial tone regulation in postnatal development: focus on smooth muscle cell potassium channels. *Int J Mol Sci* 22 (11): 5413. <https://doi.org/10.3390/ijms22115413>
- Шуваева ВН, Горшкова ОП (2018) Модуляция тонуса церебральных артерий ацетилхолином у крыс разных линий. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 104 (7): 807–816. [Shuvaeva VN, Gorshkova OP (2018) Modulation of the tone of the cerebral arteries with acetylcholine in rats of different lines. *Russ J Physiol* 104 (7): 807–816. (In Russ)]. <https://doi.org/10.7868/S0869813918070067>
- Soltani N, Mohammadi E, Allahtavakoli M, Shamsizadeh A, Roohbakhsh A, Haghparast A (2016) Effects of dimethyl sulfoxid on neuronal response characteristics in deep layers of rat barrel cortex. *Basic Clin Neurosci* 7 (3): 213–220. <https://doi.org/10.15412/J.BCN.03070306>
- Nagao T, Ibayashi S, Sadoshima S, Fujii K, Fujii K, Ohya Y, Fujishima M (1996) Distribution and physiological roles of ATP-sensitive  $K^+$  channels in the vertebralbasilar sys-

- tem of the rabbit. *Circ Res.* 78 (2): 238–243.  
<https://doi.org/10.1161/01.res.78.2.238>
12. *McPherson GA, Stork AP* (1992) The resistance of some rat cerebral arteries to the vasorelaxant effect of cromakalim and other K<sup>+</sup> channel openers. *Br J Pharmacol* 105 (1): 51–58.  
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1992.tb14209.x>
  13. *Gorshkova OP, Shuvaeva VN* (2020) Age-related changes in the role of calcium-activated potassium channels in acetylcholine mediated dilatation of pial arterial vessels in rats. *J Evol Biochem and Physiol* 56 (2): 145–152.  
<https://doi.org/10.1134/S0022093020020064>
  14. *Shekhar S, Liu R, Travis OK, Roman RJ, Fan F* (2017) Cerebral autoregulation in hypertension and ischemic stroke: a mini review. *J Pharm Sci Exp Pharmacol* (1): 21–27.
  15. *Gericke A, Sniatecki JJ, Mayer VG, Goloborodko E, Patzak A, Wess J, Pfeiffer N* (2011) Role of M1, M3, and M5 muscarinic acetylcholine receptors in cholinergic dilation of small arteries studied with gene-targeted mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300 (5): H1602–H1608.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00982.2010>
  16. *Gendron ME, Thorin E, Perrault LP* (2004) Loss of endothelial KATP channel-dependent, NO-mediated dilation of endocardial resistance coronary arteries in pigs with left ventricular hypertrophy. *Br J Pharmacol* 143 (2): 285–291.  
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705937>
  17. *Hojs N, Struel M, Cankar K* (2009) The effect of glibenclamide on acetylcholine and sodium nitroprusside induced vasodilatation in human cutaneous microcirculation. *Clin Physiol Funct Imaging* 29: 38–44.
  18. *Toyoda K, Fujii K, Ibayashi S, Kitazono T, Nagao T, Fujishima M* (1997) Role of ATP-sensitive potassium channels in brain stem circulation during hypotension. *Am J Physiol* 273 (3Pt2): H1342–H1346.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart>
  19. *Al-Karagholi MA-M, Sode M, Gozalov A, Ashina M* (2019) The vascular effect of glibenclamide: A systematic review. *Cephalalgia Reports*. 2: 1–13.  
<https://doi.org/10.1177/2515816319884937>
  20. *Iadecola C* (2017) The neurovascular unit coming of age: a journey through neurovascular coupling in health and disease. *Neuron* 96: 17–42.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.030>
  21. *Longden TA, Hill-Eubanks DC, Nelson MT* (2016) Ion channel networks in the control of cerebral blood flow. *J Cereb Blood Flow Metab* 36: 492–512.  
<https://doi.org/10.1177/0271678X15616138>
  22. *Hariharan A, Weir N, Robertson C, He L, Betsholtz C, Longden TA* (2020) The ion channel and GPCR toolkit of brain capillary pericytes. *Front Cell Neurosci* 14: 601324.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2020.601324>
  23. *Foster MN, Coetzee WA.* KATP (2016) Channels in the Cardiovascular System. *Physiol Rev* 96 (1):177–252.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2015>
  24. *Barbagallo M, Veronese N, Dominguez LJ* (2021) Magnesium in aging, health and diseases. *Nutrients* 13 (2): 463.  
<https://doi.org/10.3390/nu13020463>
  25. *Shao A, Lin D, Wang L, Tu S, Lenahan C, Zhang J* (2020) Oxidative stress at the crossroads of aging, stroke and depression. *Aging Dis* 11 (6): 1537–1566.  
<https://doi.org/10.14336/AD.2020.0225>
  26. *Yu M, Zhang H, Wang B, Zhang Y, Zheng X, Shao B, Zhuge Q, Jin K* (2021) Key signaling pathways in aging and potential interventions for healthy aging. *Cells* 10 (3): 660.  
<https://doi.org/10.3390/cells10030660>
  27. *Hosford PS, Christie IN, Niranjan A, Aziz Q, Anderson N, Ang R, Lythgoe MF, Wells JA, Tinker A, Gourine AV* (2019) A critical role for the ATP-sensitive potassium channel subunit K<sub>IR</sub>6.1 in the control of cerebral blood flow. *J Cereb Blood Flow Metab.* 39 (10): 2089–2095.  
<https://doi.org/10.1177/0271678X18780602>

## Age-Related Changes in the Functional Activity of ATP-Sensitive Potassium Channels in Rat Pial Arteries

**O. P. Gorshkova**

*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

*e-mail: o\_gorshkova@inbox.ru*

Age-related changes in the contribution of ATP-sensitive potassium channels (K<sub>ATP</sub>) to basal tone and acetylcholine (ACh)-mediated dilation of pial arterial vessels were studied in Wistar rats aged 4 and 18 months using intravital microphotography. A change in the contribution of K<sub>ATP</sub> channels to the maintenance of basal tone was assessed by the change in the number of vessels constricted in response to a K<sub>ATP</sub> channel blocker glibenclamide (10 μM). A change in the contribution of K<sub>ATP</sub> channels to vasodilation was assessed by comparing the number and degree of arterial dilation in response to ACh (10<sup>-7</sup> M, 5 min) before and after glibenclamide application. It was found that aging is accompanied by a decrease in the contribution of K<sub>ATP</sub> channels to basal tone of pial arteries. Moreover, the functional activity of K<sub>ATP</sub> channels and their contribution to vasodilation decreases with age, and in 18-month-old rats they are practically not involved in the dilatory response to ACh.

*Key words:* ATP-sensitive potassium channels, aging, ACh-dependent vasodilatation, pial arterial vessels