

ВЛИЯНИЕ ГИБЕРНАЦИИ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И КАЛИЕВЫЕ ТОКИ В МИОКАРДЕ ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА

© 2023 г. Т. С. Филатова¹, Д. В. Абрамочкин¹, *

¹Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*E-mail: abram340@mail.ru

Поступила в редакцию 06.04.2023 г.

После доработки 10.05.2023 г.

Принята к публикации 12.05.2023 г.

Гибернирующие млекопитающие способны снижать температуру своего тела до значений, близких к 0°C. При этом их сердце чрезвычайно устойчиво к развитию аритмий, вызванных снижением температуры. В данной работе впервые были исследованы калиевые токи в миокарде зимоспящего млекопитающего на примере длиннохвостого суслика (*Citellus undulatus*) и их изменение при гибернации. С помощью метода пэтч-кламп были исследованы транзиторный выходящий ток I_{to} и фоновый ток входящего выпрямления I_{K1} в изолированных желудочковых и предсердных кардиомиоцитах летних (активных) и зимних (гибернирующих) сусликов. В работе выявлено, что при комнатной температуре, при положительных поддерживаемых потенциалах пиковая амплитуда тока I_{to} в кардиомиоцитах гибернирующей группы животных статистически значительно ниже, чем таковая у летней группы. Подавление тока I_{to} при гибернации было выражено сильнее в желудочковом миокарде по сравнению с предсердным. Фоновый ток входящего выпрямления I_{K1} при адаптации к гибернации усиливался в желудочковом миокарде зимней группы животных. В предсердном миокарде статистически значимых различий тока I_{K1} между группами не было обнаружено. Также в работе регистрировали потенциалы действия в изолированных желудочковых кардиомиоцитах. Длительность потенциалов действия на уровнях реполяризации 50 и 90% не различалась между группами, также не было выявлено различий в максимальной скорости нарастания переднего фронта потенциалов действия и уровне потенциала покоя. В совокупности, выявленные различия в амплитуде токов I_{to} и I_{K1} между активными и гибернирующими сусликами могут способствовать увеличению длительности рефрактерного периода и поддержанию потенциала покоя при низкой температуре.

Ключевые слова: сердце, гибернация, потенциал действия, пэтч-кламп, ионные токи, I_{to} , I_{K1}

DOI: 10.31857/S0869813923060031, EDN: WGZKYU

ВВЕДЕНИЕ

В умеренных широтах адаптация к низким температурам в зимний период является серьезным испытанием для всех организмов. Некоторые виды млекопитающих развили уникальную стратегию выживания – а именно способность впадать в спячку или гибернировать [1]. При этом температура их тела снижается от физиологического уровня (36–38°C) до значений, близких к 0°C и в некоторых случаях ни-

же [2], а большая часть физиологических процессов и метаболизм замедляются — так, потребление кислорода может падать до 2–3% от уровня его потребления бодрствующим животным. Сердце гибернирующего животного, однако, продолжает функционировать и сокращаться — хотя и с меньшей частотой: у мелких видов гибернирующих животных (например, сусликов) частота сокращений сердца снижается от 200–300 до 3–10 уд./мин [3]. Способность поддерживать нормальную работу сердца при низких температурах является уникальной для гибернирующих видов среди млекопитающих. У прочих видов млекопитающих при снижении температуры тела (или сердца *in situ*) ниже 27°C развиваются различные аритмии, вплоть до фибрилляции желудочков [4, 5], а при температуре ниже 17°C работа сердца прекращается [6]. Напротив, сердце гибернирующих видов животных весьма устойчиво к так называемым холодовым аритмиям, в том числе при снижении температуры во время входа в гибернацию и при ее повышении во время пробуждения животного [4, 7].

Физиологические механизмы, стоящие за этим, являются предметом разностронних исследований. Показано, что одним из факторов, провоцирующих фибрилляцию желудочков при гипотермии является гетерогенность электрической активности, а также неравномерное замедление скорости проведения возбуждения, что значительно сильнее выражено в миокарде не гибернирующих животных [8]. Одним из механизмов, противодействующих этому, может быть увеличение уровня экспрессии коннексинов в миокарде гибернирующих животных [9] — это делает электрические свойства миокарда более гомогенными.

Еще одним возможным противоаритмическим механизмом, предложенным в качестве возможной защиты от холодовых аритмий при гибернации, является экстраемальное увеличение длительности рефрактерного периода. Показано, что у гибернирующих млекопитающих длительность рефрактерного периода может превышать длительность потенциалов действия, что, предположительно, может предотвращать замыкание контуров циркуляции возбуждения и препятствовать развитию фибрилляции желудочков при низких температурах [10, 11].

Таким образом, реполяризация миокарда и ее возможное ремоделирование, по всей видимости, играют роль в адаптации к условиям гибернации. Предыдущие исследования показали изменение амплитуды Ca^{2+} тока *L*-типа в миокарде сусликов при входе в гибернацию [12]. Однако прочие ионные токи, включая калиевые, вносящие основной вклад в реполяризацию миокарда, у гибернирующих видов не были изучены. Данное исследование ставило своей целью изучение возможного изменения в наборе калиевых токов, участвующих в реполяризации миокарда зимоспящих животных, при адаптации к условиям гибернации.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Дикие длиннохвостые суслики (*Citellus undulatus*) обоих полов были пойманы в горах Алтая и транспортированы в лабораторию в Москве. С августа по конец сентября животных содержали в индивидуальных клетках при световом периоде 12 : 12 и температуре $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Животных кормили *ad libitum* зерновой смесью с семенами подсолнечника с добавлением свежих овощей. С начала октября для входа в гибернацию сусликов содержали в металлических боксах, наполненных сеном, которые помещали в холодную комнату с контролем температуры. Температуру постепенно снижали (по 1°C в день) до достижения уровня 2°C при фотопериоде 2 : 22. После одной недели содержания при 2°C освещение полностью выключали. Температуру тела животных измеряли с помощью бесконтактного термометра. Эксперименты на зимних гибернирующих сусликах проводились, когда животные были в состоя-

нии глубокой гибернации. Каждое животное из зимней группы использовали не ранее, чем через 10 дней после последнего эпизода бодрствования. Суслики из летней группы имели массу тела 400–450 г ($n = 4$), в зимней группе – 350–400 г ($n = 4$).

Выделение кардиомиоцитов

Кардиомиоциты выделяли с использованием методики, описанной ранее [13]. Животных анестезировали изофлураном (3.5% изофлурана в смеси с кислородом со скоростью 2 л/мин) и декапитировали. Грудную клетку вскрывали, сердце быстро вырезали и помещали на аппарат Лангендорфа. Сердце ретроградно перфузировали через аорту бескальциевым раствором, содержащим (в мМ): NaCl 116; KCl 4; NaH_2PO_4 1.7; NaHCO_3 25; MgCl_2 0.55; пируват натрия 5; таурин 20; глюкоза 11; бычий сывороточный альбумин 1 г/мл; pH 7.4 поддерживали путем аэрации карбогеном (95% O_2 , 5% CO_2) при 37°C. После 10 мин перфузии и вымывания крови сердцебиение останавливалось. Перфузию переключали на раствор аналогичного состава с добавлением 0.5 мг/мл коллагеназы II типа (Worthington, США), 0.035 мг/мл протеазы XIV типа (Sigma Aldrich, США) и 7.5 мкМ CaCl_2 . После 40–60 мин обработки ферментами перфузию останавливали. Предсердия и желудочки разделяли, разрезали на мелкие фрагменты и пипетировали, высвобождая изолированные кардиомиоциты в раствор Kraftbrühe содержащий (в мМ): MgSO_4 3; KCl 30; KH_2PO_4 30; ЭГТА 0.5; глутамат калия 50; HEPES 20; таурин 20; глюкоза 10; pH 7.2 доводили с помощью KOH [14]. Изолированные миоциты хранили в растворе Kraftbrühe при комнатной температуре и использовали для работы в течение 8 ч.

Регистрация ионных токов

Ионные токи и потенциалы действия регистрировали в изолированных кардиомиоцитах суслика, используя стандартный метод пэтч-кламп в конфигурации whole-cell в режиме поддержания потенциала (voltage-clamp) или тока (current-clamp), соответственно. Записи были получены с использованием усилителя НЕКА ЕРС 800 (НЕКА Elektronik, Германия) и программного обеспечения WinWCP 4.8.7 (University of Strathclyde, Великобритания). Небольшую порцию суспензии клеток помещали в экспериментальную камеру (RC-26; Warner Instrument Corporation, США; объем 150 мкл), монтированную на инвертированном микроскопе, и перфузировали со скоростью около 1.5 мл/мин внешним физиологическим раствором, содержащим (в мМ): NaCl 150; KCl 3; CaCl_2 1.8; глюкоза 10; HEPES 10; pH 7.4 доводили с помощью NaOH. Токи и потенциалы действия регистрировали при комнатной температуре (24°C). При регистрации токов I_{Ca} и I_{K} к внешнему раствору добавляли блокатор Ca^{2+} каналов нифедипин (20 мкМ) для подавления Ca^{2+} тока L-типа, а также 4-аминопиридин (100 мкМ) для блокирования ультрабыстрого тока задержанного выпрямления I_{Kur} . Пэтч-пипетки вытягивали из боросиликатных стеклянных капилляров без филамента (Sutter Instrument, США) и заполняли пипеточным раствором. Сопrotивление заполненных пипеток составляло 2–3 МΩ. Пипеточный раствор для регистрации K^+ токов имел следующий состав (в мМ): KCl 140; MgCl_2 1; ЭГТА 5; MgATP 4; Na_2GTP 0.3; HEPES 10; pH 7.2 доводили с помощью KOH. Для записи потенциалов действия в режиме поддержания тока использовали пипеточный раствор сходного состава, но со сниженной концентрацией ЭГТА (0.025 мМ), соответствующей буферной емкости цитоплазмы и более подходящей для регистрации мембранного потенциала.

Статистический анализ

Анализ данных осуществляли с использованием программного обеспечения Clampfit 10.3 (Molecular Devices, США); статистический анализ проводили с использованием обеспечения GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). Результаты представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего для n клеток. Амплитуду токов нормировали на емкость клеток и выражали в пА/пФ (pA/pF). Нормальность распределения выборок оценивали с помощью теста Шапиро–Уилка. Сравнение между двумя экспериментальными группами проводили с помощью t -теста Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Транзиторный выходящий ток I_{to}

При деполяризации от поддерживаемого потенциала -80 мВ до -40 мВ и более положительных потенциалов в предсердных и желудочковых кардиомиоцитах суслика активировался выходящий, быстро инактивирующийся ток, чувствительный к 4-аминопиридину (3 мМ) и определенный как калиевый транзиторный выходящий ток I_{to1} (далее обозначаемый как I_{to}). Возможно присутствующий хлорный кальцийзависимый ток I_{to2} в эксперименте не регистрировали, т.к. вход кальция в кардиомиоциты был подавлен нифедипином во внешнем растворе [15]. Также при деполяризации активировался ультрабыстрый калиевый ток задержанного выпрямления I_{Kur} , чувствительный к 100 мкМ 4-аминопиридина – однако ток I_{Kur} имел крайне низкую амплитуду по сравнению с током I_{to} и был исключен из анализа. На рис. 1 представлены репрезентативные записи тока I_{to} , протокол изменения мембранного потенциала, а также вольт-амперные характеристики I_{to} в предсердных и желудочковых кардиомиоцитах суслика. В предсердных клетках, полученных как от летних активных (SA) сусликов, так и от зимних гибернирующих (WH) животных, амплитуда тока была выше, чем в желудочковых, при большинстве тестовых потенциалов (рис. 1b, 1c). Адаптация к низким температурам и гибернация приводили к существенному снижению пиковой амплитуды I_{to} – причем в желудочках оно было выражено сильнее (статистически значимые отличия наблюдались при менее положительных потенциалах), чем в предсердиях.

Фоновый ток входящего выпрямления I_{K1}

Фоновый ток входящего выпрямления I_{K1} регистрировали с использованием пилообразного протокола (см. рис. 2) после подавления токов I_{to} и I_{Kur} (3 мМ 4-аминопиридина во внешнем растворе). В предсердных миоцитах SA и WH сусликов амплитуда I_{K1} (как входящей, так и выходящей компоненты) была статистически значимо ниже, чем в желудочковых клетках. В желудочковых миоцитах гибернирующих сусликов амплитуда I_{K1} была статистически значимо выше по сравнению с I_{K1} в желудочковых клетках SA группы (рис. 2a). Однако в предсердных кардиомиоцитах мы не выявили статистически значимых различий в амплитуде как входящей, так и выходящей амплитуды I_{K1} между SA и WH группами (рис. 2b).

Потенциалы действия

Из-за разницы в плотности фонового тока входящего выпрямления I_{K1} , ответственного за поддержание потенциала покоя в сердечной ткани позвоночных [16], зарегистрировать потенциалы действия (ПД) в режиме поддержания тока было возможно только в желудочковых кардиомиоцитах, где ток I_{K1} был более выражен

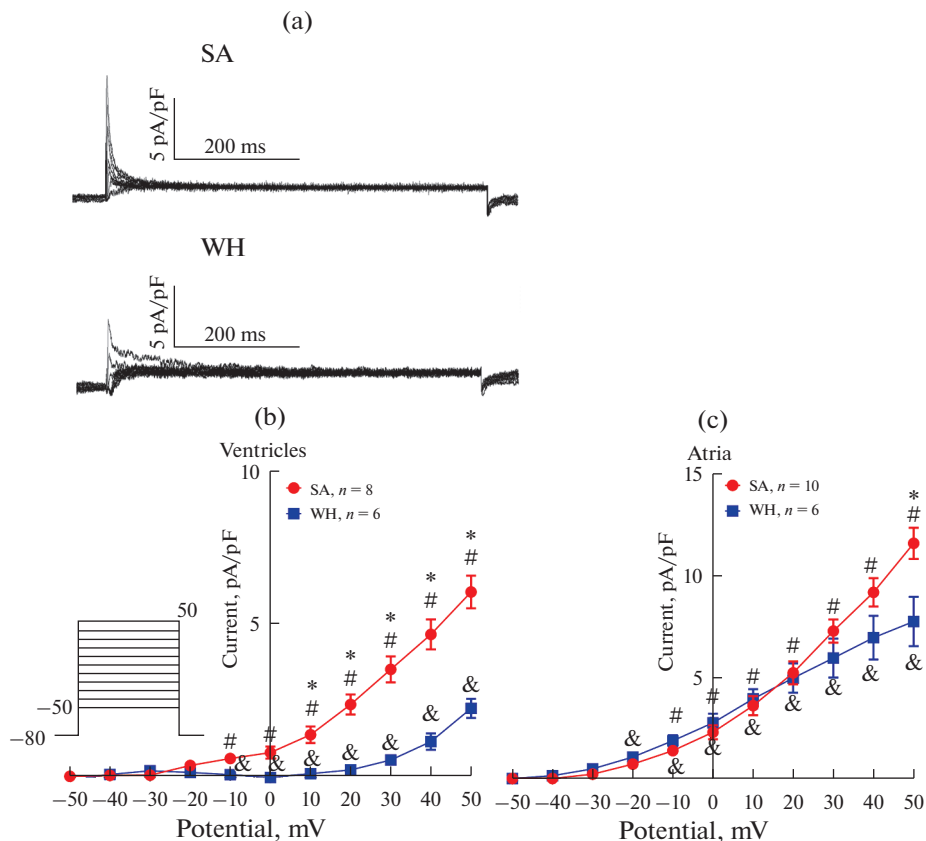


Рис. 1. Влияние гибернации на транзитный выходящий ток I_{to} . Репрезентативные записи тока I_{to} в желудочковых кардиомиоцитах суслика (а), а также его вольт-амперные характеристики в желудочковых (б) и предсердных (с) кардиомиоцитах суслика. Протокол изменения мембранного потенциала показан на врезке. * – $p < 0.05$, различия между SA и WH группами, t -тест Стьюдента; # – $p < 0.05$, различия между желудочковыми и предсердными миоцитами в SA группе, t -тест Стьюдента; & – $p < 0.05$, различия между желудочковыми и предсердными миоцитами в WH группе, t -тест Стьюдента.

(см. рис. 2). Анализировали такие параметры, как длительность ПД на уровнях 50 и 90% реполяризации (ДПД50 и ДПД90 соответственно), а также максимальную скорость нарастания переднего фронта ПД. На рис. 3 представлены репрезентативные записи ПД, а также гистограммы, отражающие сравнение анализируемых параметров.

Мы не обнаружили статистически значимых различий между SA и WH группами в конфигурации ПД. Мембранный потенциал покоя также не различался между группами и составлял -82.66 ± 0.72 мВ в кардиомиоцитах от SA сусликов и -81.25 ± 0.93 мВ у WH сусликов ($p = 0.3$, t -тест Стьюдента).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данное исследование, помимо рассмотрения влияния гибернации, впервые затрагивает изучение калиевых токов в миокарде одного из наиболее известных гибернирующих видов млекопитающих – длиннохвостого суслика. Мы впервые по-

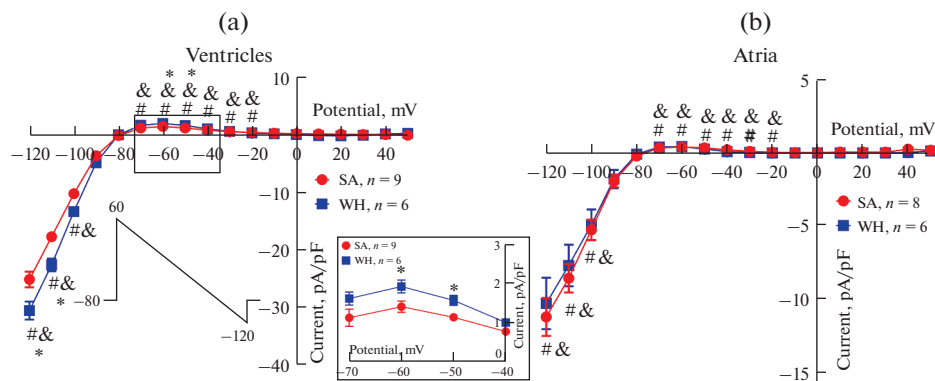


Рис. 2. Влияние гибернации на фоновый ток входящего выпрямления I_{K1} . Вольт-амперные характеристики тока I_{K1} в желудочковых (а) и предсердных (б) кардиомиоцитах суслика. На врезке показаны различия в выходящей компоненте I_{K1} в желудочковых клетках. * – $p < 0.05$, различия между SA и WH группами, t -тест Стьюдента; # – $p < 0.05$, различия между желудочковыми и предсердными миоцитами в SA группе, t -тест Стьюдента; & – $p < 0.05$, различия между желудочковыми и предсердными миоцитами в WH группе, t -тест Стьюдента.

казали присутствие в миокарде суслика высокоамплитудного тока I_{to} ; прочие мажорные калиевые токи задержанного выпрямления, такие как I_{Kr} и I_{Ks} , в миокарде суслика обнаружены не были. Это делает электрофизиологический фенотип сердца сусликов весьма сходным с таковым для миокарда лабораторных грызунов — в частности крыс, для которых также характерны большой ток I_{to} и низкоамплитудный I_{Kur} [17]. Таким образом, ввиду того что для разных калиевых токов характерна различная степень температурной зависимости, мы полагаем, что наиболее корректно при сравнении с сусликами в качестве группы не зимоспящих животных использовать именно крыс.

Также в данной работе мы впервые показали, что гибернация приводит к снижению амплитуды транзитного выходящего тока I_{to} — который, исходя из его большой амплитуды и сходности электрофизиологических фенотипов миокарда крысы и суслика, может быть основным реполяризирующим током в миокарде суслика. При этом, однако, длительность ПД на различных уровнях реполяризации в группе WH осталась неизменной. Более ранние исследования показали, что адаптация к зимнему периоду и гибернация приводят к снижению амплитуды кальциевого тока L -типа в желудочковом миокарде сусликов [12]. Поскольку кальциевый ток участвует в формировании фазы плато ПД [18], а I_{to} в миокарде сусликов предположительно (аналогично роли в миокарде крысы) вносит основной вклад в реполяризацию [17], то в совокупности эти разнонаправленные изменения выраженности I_{CaL} и I_{to} могут привести к тому, что длительность ПД практически не изменяется. Если снижение кальциевого тока при гибернации может предотвращать перегрузку кардиомиоцитов кальцием, то снижение амплитуды I_{to} может служить механизмом, предотвращающим чрезмерное укорочение ПД и сокращение длительности рефрактерного периода. В свою очередь, увеличение длительности рефрактерного периода, вплоть до развития постреполяризационной рефрактерности, может быть одним из механизмов, предотвращающих возникновение аритмий при снижении температуры [10]. Помимо прямого влияния на длительность ПД, изменение амплитуды I_{to} у гибернирующих животных может также определять уровень мем-

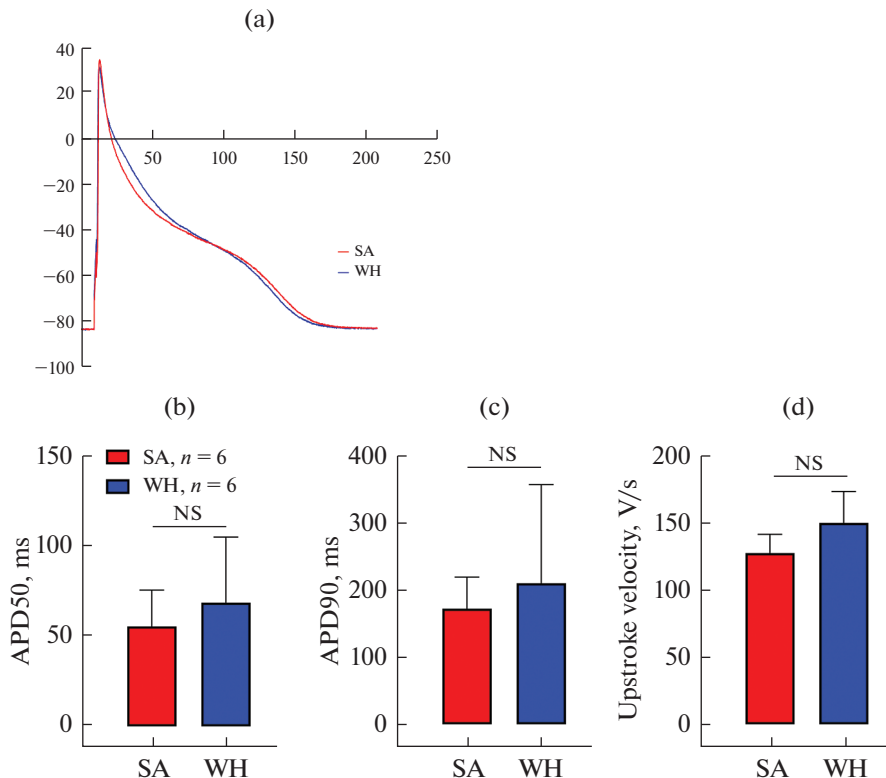


Рис. 3. Влияние гибернации на конфигурацию потенциалов действия в желудочковых кардиомиоцитах суслика. Репрезентативные записи ПД (а), сравнение длительности ПД на уровне 50% (б) и 90% (с) реполяризации и максимальной скорости нарастания переднего фронта ПД (д). NS – отсутствие статистически значимых различий, *t*-тест Стьюдента.

бранного потенциала в фазе плато [19] – и, соответственно, опосредованно влиять на вход кальция и длительность мембранного потенциала. Также в данной работе мы показали, что гибернация ведет к разнонаправленным изменениям в амплитудах токов I_{to} и I_{K1} – что также может быть причиной отсутствия изменений в длительности ПД, регистрируемых в миокарде групп WH и SA.

Мы также впервые показали, что по крайней мере в желудочковом миокарде суслика гибернация приводит к усилению тока I_{K1} . Данная адаптация может быть важна для поддержания нормального уровня потенциала покоя при снижении температуры тела во время гибернации. В самом деле, предыдущие исследования показали, что в миокарде суслика при снижении температуры мембрана деполяризуется по крайней мере в значительно меньшей степени по сравнению с таковым в миокарде не гибернирующих животных [11, 20]. С другой стороны, при анализе зарегистрированных нами потенциалов действия мы не обнаружили заметной гиперполяризации мембраны кардиомиоцитов, полученных от животных в состоянии гибернации – чего можно было бы ожидать при усилении тока I_{K1} . Можно предположить, что изменения в амплитуде тока I_{K1} , вызванные гибернацией, оказались недостаточны для значимого изменения уровня мембранного потенциала. Однако ввиду того, что регистрируемый потенциал покоя при регистрации ПД ме-

тодом пэтч-кламп в значительной степени зависит от качества контакта между мембраной клетки и пэтч-пипетки, что, в свою очередь, зависит от процесса выделения и качества изолированных кардиомиоцитов [21], результаты данной части исследования должны быть интерпретированы с осторожностью.

Отсутствие различий в длительности ПД на различных уровнях реполяризации в желудочковых кардиомиоцитах хорошо согласуется с полученными ранее данными о длительности ПД в миокарде SA и WH сусликов, а также крыс [11]. С другой стороны, аналогичные исследования, выполненные на предсердном миокарде сусликов, показали некоторое увеличение длительности ПД в миокарде гибернирующей группы при равной температуре и длине цикла стимуляции [10] – предположительно, это может быть связано с изменением амплитуды ультрабыстрого тока задержанного выпрямления I_{Kur} , который не рассматривался в данном исследовании. Мы в данной работе показали, что изменение амплитуды мажорных калиевых токов, участвующих в реполяризации и поддержании потенциала покоя (а именно I_{to} и I_{K1}), в разной степени выражено в желудочковом и предсердном миокарде. В совокупности это может указывать на то, что при гибернации ремоделирование электрической активности миокарда предсердий и желудочков происходит по-разному.

Таким образом, данное исследование впервые рассматривает изменения в выраженности реполяризирующих калиевых токов при адаптации к гибернации. Выявленные различия в амплитуде токов I_{to} и I_{K1} между активными и гибернирующими сусликами могут предположительно вносить вклад в увеличение длительности рефрактерного периода и поддержание потенциала покоя при низких температурах, предотвращая развитие аритмий и способствуя выживанию животных.

СОБЛЮДЕНИЕ БИОЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации, директиве 2010/63/ЕС по обращению с лабораторными животными. Протоколы исследования были одобрены биоэтическим комитетом НМИЦ кардиологии им. ак. Е.И. Чазова.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование было поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (задание № 122012100156-5).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента – Д.В.А., сбор данных – Д.В.А., Т.С.Ф., обработка данных – Д.В.А., Т.С.Ф., написание и редактирование рукописи – Д.В.А., Т.С.Ф.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lyman CP, Chatfield PO (1955) Physiology of Hibernation in Mammals. *Phys Rev* 35: 403–425. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.1955.35.2.403>

2. *Barnes BM* (1989) Freeze Avoidance in a Mammal: Body Temperatures Below 0°C in an Arctic Hibernator. *Science* 244: 1593–1595.
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.2740905>
3. *Andrews MT* (2007) Advances in molecular biology of hibernation in mammals. *BioEssays* 29: 431–440.
<https://doi.org/10.1002/BIES.20560>
4. *Johansson BW* (1996) The hibernator heart – Nature’s model of resistance to ventricular fibrillation. *Cardiovasc Res* 31: 826–832.
[https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(95\)00192-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(95)00192-1)
5. *Burlington RF, Darvish A* (1988) Low-Temperature Performance of Isolated Working Hearts from a Hibernator and a Nonhibernator. *Physiol Zool* 61: 387–395.
<https://doi.org/10.1086/PHYSZOO.61.5.30161260>
6. *White JD* (1980) Cardiac Arrest in Hypothermia. *JAMA* 244: 2262–2262.
<https://doi.org/10.1001/JAMA.1980.03310200014007>
7. *Johansson BW* (1985) Ventricular Repolarization and Fibrillation Threshold in Hibernating Species. *Eur Heart J* 6: 53–62.
https://doi.org/10.1093/EURHEARTJ/6.SUPPL_D.53
8. *Egorov YV, Glukhov AV, Efimov IR, Rosenshtraukh LV* (2012) Hypothermia-induced spatially discordant action potential duration alternans and arrhythmogenesis in nonhibernating versus hibernating mammals. *Am J Physiol – Hear Circ Physiol* 303(8): H1035–H1046.
<https://doi.org/10.1152/AJPHEART.00786.2011/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH40201205500008.JPEG>
9. *Fedorov VV, Glukhov AV, Sudharshan S, Egorov Y, Rosenshtraukh LV, Efimov IR* (2008) Electrophysiological mechanisms of antiarrhythmic protection during hypothermia in winter hibernating versus nonhibernating mammals. *Hear Rhythm* 5: 1587–1596.
<https://doi.org/10.1016/J.HRTHM.2008.08.030>
10. *Kuzmin VS, Abramov AA, Egorov YV, Rosenshtraukh LV* (2019) Hypothermia-Induced Postrepolarization Refractoriness Is the Reason of the Atrial Myocardium Tolerance to the Bioelectrical Activity Disorders in the Hibernating and Active Ground Squirrel *Citellus undulatus*. *Dokl Biol Sci* 486: 63–68.
<https://doi.org/10.1134/S0012496619030050/FIGURES/3>
11. *Kuz'min VS, Abramov AA, Egorov IV, Rozenshtraukh LV* (2014) Hypothermia induced alteration of refractoriness in the ventricular myocardium of ground squirrel *Citellus undulatus*. *Ros Fiziol Zhurnal Im IM Sechenova* 100: 1399–1408.
12. *Alekseev AE, Markevich NI, Korystova AF, Terzic A, Kokoz YM* (1996) Comparative analysis of the kinetic characteristics of L-type calcium channels in cardiac cells of hibernators. *Biophys J* 70: 786–797.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(96\)79618-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(96)79618-2)
13. *Abramochkin DV, Filatova TS, Pustovit KB, Dzhumaniiazova I, Karpushev AV* (2021) Small G–protein RhoA is a potential inhibitor of cardiac fast sodium current. *J Physiol Biochem* 77: 13–23.
<https://doi.org/10.1007/s13105-020-00774-w>
14. *Isenberg G, Klockner U* (1982) Calcium tolerant ventricular myocytes prepared by preincubation in a “KB medium.” *Pflügers Arch Eur J Physiol* 395: 6–18.
<https://doi.org/10.1007/BF00584963>
15. *Yue L, Feng J, Li GR, Nattel S* (1996) Transient outward and delayed rectifier currents in canine atrium: properties and role of isolation methods. *Am J Physiol Circ Physiol* 270: H2157–H2168.
<https://doi.org/10.1152/AJPHEART.1996.270.6.H2157>
16. *Ibarra J, Morley GE, Delmar M* (1991) Dynamics of the inward rectifier K⁺ current during the action potential of guinea pig ventricular myocytes. *Biophys J* 60: 1534–1539.
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(91\)82187-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(91)82187-7)
17. *Apkon M, Nerbonne JM* (1991) Characterization of two distinct depolarization-activated K⁺ currents in isolated adult rat ventricular myocytes. *J Gen Physiol* 97: 973–1011.
<https://doi.org/10.1085/JGP.97.5.973>
18. *Linz KW, Meyer R* (2000) Profile and kinetics of L-type calcium current during the cardiac ventricular action potential compared in guinea-pigs, rats and rabbits. *Pflügers Arch* 439: 588–599.
<https://doi.org/10.1007/S004249900212>
19. *Dong M, Yan S, Chen Y, Niklewski PJ, Sun X, Chenault K, Wang HS* (2010) Role of the Transient Outward Current in Regulating Mechanical Properties of Canine Ventricular Myocytes. *J Cardiovasc Electrophysiol* 21: 697–703.
<https://doi.org/10.1111/J.1540-8167.2009.01708.X>
20. *Liu B, Arlock P, Wohlfart B, Johansson BW* (1991) Temperature effects on the Na and Ca currents in rat and hedgehog ventricular muscle. *Cryobiology* 28: 96–104.
[https://doi.org/10.1016/0011-2240\(91\)90011-C](https://doi.org/10.1016/0011-2240(91)90011-C)
21. *Wilson JR, Clark RB, Banderali U, Giles WR* (2011) Measurement of the membrane potential in small cells using patch clamp methods. *Channels* 5: 530.
<https://doi.org/10.4161/CHAN.5.6.17484>

The Influence of Hibernation on Electrical Activity and Potassium Currents in Myocardium of Long-Tailed Ground Squirrel

T. S. Filatova^a and D. V. Abramochkin^{a, *}

^aDepartment of Human and Animal Physiology, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*e-mail: abram340@mail.ru

Hibernating mammals are capable of reducing the temperature of their bodies down to 0°C. During this process, their heart is highly resistant to the occurrence of arrhythmias caused by temperature fall. In this research we have for the first-time studied potassium currents in the myocardium of a hibernating mammal on the example of long-tailed ground squirrel (*Citellus undulatus*) and its change upon hibernation. Using patch clamp method, we studied transient outward current I_{to} and background inward rectifier current I_{K1} in isolated ventricular and atrial myocytes from summer (active) and winter (hibernating) ground squirrels. The study revealed, that at room temperature and at positive holding potentials peak amplitude of I_{to} in cardiomyocytes from hibernating group of animals is lower than that of the summer group. The downregulation of I_{to} upon hibernation was more pronounced in ventricular myocardium in comparison to that in atrial. Background inward rectifier current I_{K1} was enhanced in ventricular myocardium of winter group of animals, upon the adaptation to hibernation. In atrial myocardium there were no statistically significant differences of I_{K1} between the two groups. We also recorded action potentials in isolated ventricular cardiomyocytes. The duration of action potentials at the levels of 50 and 90% repolarization did not differ between the groups, we also did not find significant differences in maximum upstroke velocity and in the level of resting membrane potential. Taken together, the revealed differences in the amplitude of I_{to} and I_{K1} between active and hibernating ground squirrels can serve as mechanisms increasing the duration of refractory period and to maintaining the level of resting membrane potential at low temperatures.

Keywords: heart, hibernation, action potential, patch clamp, ionic currents, I_{to} , I_{K1}