

## ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 591.112.1

**Калиевые токи входящего выпрямления  $I_{K1}$  и  $I_{KACH}$  в рабочем миокарде японского перепела (*Coturnix japonica*)****Т.С. Филатова<sup>1,2,3,\*</sup> , Д.В. Абрамочкин<sup>1,2,3</sup> **<sup>1</sup>*Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;*<sup>2</sup>*Лаборатория электрофизиологии сердца, Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии, Россия, 121552, г. Москва, ул. Черепковская 3-я, д. 15а;*<sup>3</sup>*Кафедра физиологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1**\*e-mail: filatova@mail.bio.msu.ru*

Несмотря на то, что эмбрионы птиц широко используются в исследованиях, клеточные и молекулярные аспекты физиологии сердца взрослых птиц изучены слабо. Недавние исследования показали, что, несмотря на отдаленное систематическое положение, набор реполяризирующих калиевых токов в сердце птиц напоминает таковой у млекопитающих и, в частности, у человека, что позволяет считать птиц потенциальным модельным объектом в экспериментальной кардиологии. Данное исследование впервые характеризует калиевые токи входящего выпрямления в рабочем миокарде перепела. С помощью метода пэтч-кламп в изолированных предсердных и желудочковых миоцитах перепела был зарегистрирован основной фоновый ток входящего выпрямления  $I_{K1}$ . Входящая и выходящая компоненты  $I_{K1}$  в желудочковых клетках превышали таковые в предсердных, различия в степени выпрямления тока не были выявлены. Карбахол вызывал активацию ацетилхолинзависимого тока входящего выпрямления  $I_{KACH}$  в предсердных, но не в желудочковых миоцитах. Ток  $I_{KACH}$  в предсердных миоцитах был чувствителен к терциапину. Конститутивно активный ацетилхолинзависимый ток  $I_{KACH}$  не был обнаружен ни в предсердных, ни в желудочковых клетках. В многоклеточных препаратах правого предсердия перепела карбахол вызывал гиперполяризацию и укорочение потенциалов действия, тогда как в препаратах правого желудочка эти эффекты отсутствовали. Активация тока  $I_{KACH}$  под действием карбахола была дозозависимой с  $EC_{50} = 4,922 \times 10^{-7}$  М. Описанное распределение токов входящего выпрямления  $I_{K1}$  и  $I_{KACH}$  в миокарде птиц сходно с таковым у млекопитающих, используемых в качестве экспериментальных объектов в физиологических исследованиях.

**Ключевые слова:** птицы, рабочий миокард, биоэлектрическая активность, изолированные кардиомиоциты, пэтч-кламп, ионные токи

Птицы наряду с млекопитающими в ходе эволюции независимо приобрели гомойотермность и четырехкамерное сердце, необходимое для адекватного снабжения тканей организма кислородом и поддержания оптимальной интенсивности метаболизма. При этом по своей морфологии и ультраструктуре кардиомиоциты птиц сходны с кардиомиоцитами рептилий. По сравнению с кардиомиоцитами млекопитающих, кардиомиоциты птиц имеют вытянутую, веретеновидную форму; в миоцитах птиц отсутствуют характерные для млекопитающих поперечные (или Т-) трубочки, необходимые для быстрой передачи возбуждения внутрь кардиомиоцита [1]. Несмотря на эти признаки, считающиеся архаичными, сердца птиц способны поддерживать высокое системное давление в русле большого круга кровообращения и по производительности могут превосходить

сердца млекопитающих [2]. Поскольку сократительная активность и, следовательно, насосная функция сердца напрямую зависят от его электрической активности, предыдущие исследования нашей группы были нацелены на исследование набора ионных токов, обеспечивающих электрическую активность сердца птиц [3, 4]. Показано, что деполяризация миокарда птиц среднего размера (на примере японского перепела, *Coturnix japonica*) обеспечивается быстрым натриевым током  $I_{Na}$  [5] и кальциевым током L-типа  $I_{CaL}$  [4], в то время как реполяризацию обеспечивают транзиторный выходящий калиевый ток  $I_{to1}$ , а также быстрый и медленный токи задержанного выпрямления,  $I_{Kr}$  и  $I_{Ks}$  [3]. Описываемый электрофизиологический фенотип отличается от набора токов в миокарде эволюционно наиболее близкой к птицам группы, рептилий [6], и в зна-

чительной степени напоминает электрофизиологический фенотип миокарда млекопитающих – в частности, человека [7, 8]. В совокупности это делает миокард птиц как перспективным объектом для фундаментальных исследований, так и потенциальным модельным объектом для испытаний новых кардиотропных препаратов, что требует более пристального изучения различных аспектов физиологии сердца птиц.

Семейство калиевых токов входящего выпрямления ( $I_{K_{ir}}$ ) является одной из наиболее важных групп токов в миокарде позвоночных животных и включает три тока: основной фоновый ток входящего выпрямления  $I_{K1}$ , ацетилхолинзависимый ток  $I_{K_{ACH}}$ , а также АТФ-зависимый ток  $I_{K_{ATP}}$ , активирующийся только в условиях ишемии [9] и не рассматриваемый в настоящем исследовании. Основной функцией токов входящего выпрямления является поддержание стабильного негативного потенциала покоя и участие в поздней реполяризации кардиомиоцитов; фоновый ток  $I_{K1}$  выполняет эту функцию постоянно, тогда как ацетилхолинзависимый ток  $I_{K_{ACH}}$  активируется только при связывании ацетилхолина с М2-рецепторами и обеспечивает отрицательные хроно- и инотропный эффекты при возбуждении парасимпатической системы [10]. Целью данного исследования было выявление калиевых токов входящего выпрямления  $I_{K1}$  и  $I_{K_{ACH}}$  в рабочем миокарде птиц и описание их основных свойств, таких как вольт-амперные характеристики, чувствительность к блокаторам и агонистам, а также распределение каналов в миокарде.

### Материалы и методы

Перепелы японские (*Coturnix japonica*, эстонская разновидность) обоих полов в возрасте 2–4 мес. и весом 250–300 г были получены с фермы «Орловский дворик» (г. Мытищи, Московская обл., Россия). Перед экспериментами животных содержали в течение 10 сут при световом дне 12:12 с доступом *ad libitum* к воде и промышленному корму для перепелов. Все процедуры проводили в соответствии с директивой 86/609/ЕЕС по обращению с лабораторными животными.

Изолированные желудочковые и предсердные миоциты перепела выделяли по описанной ранее методике [4]. Животным вводили гепарин внутривенно (1000 ед./кг), после чего декапитировали. После вскрытия грудобрюшной полости сердце быстро вырезали и помещали на аппарат Лангендорфа для ретроградной перфузии не содержащим  $Ca^{2+}$  модифицированным физиологическим раствором следующего состава (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 мг/мл; pH поддерживали на уровне 7,4 аэрацией

карбогеном (95%  $O_2$ ; 5%  $CO_2$ ) при температуре 42°C. После вымывания крови из сердца и 7–9-минутной перфузии сердце перфузировали раствором аналогичного состава с добавлением коллагеназы II (0,4 мг/мл) и  $CaCl_2$  (16 мкМ). Перфузию раствором, содержащим фермент, проводили в течение 35 или 40 мин для выделения предсердных или желудочковых кардиомиоцитов соответственно. Изолированные кардиомиоциты в течение 6–8 ч хранили при температуре 24°C в растворе Kraftbrühe следующего состава (мМ):  $MgSO_4$  – 3; KCl – 30;  $KH_2PO_4$  – 30; EGTA – 0,5; глутамат калия – 50; Hepes – 20; таурин – 20; глюкоза – 10 (pH 7,2) [11].

Ионные токи, а также потенциалы действия в части экспериментов регистрировали в изолированных кардиомиоцитах перепела методом пэтч-кламп в конфигурации whole cell с помощью усилителя НЕКА ЕРС-800 (НЕКА Elektronik, Германия). При записи ионных токов и потенциалов действия использовали, соответственно, режим фиксации потенциала (voltage clamp) или фиксации тока (current clamp). Клетки помещали в экспериментальную камеру RC-26 объемом 150 мкл (Warner Instrument Corporation, США) и постоянно перфузировали раствором, имитирующим внеклеточную среду (в мМ: NaCl – 150; KCl – 5,4;  $CaCl_2$  – 1,8;  $MgCl_2$  – 1,2; глюкоза – 10; Hepes – 10; pH 7,4), при температуре 24°C. Для блокирования кальциевого тока и медленного калиевого тока задержанного выпрямления в раствор добавляли нифедипин ( $10^{-5}$  М) и хроманол 293В ( $2 \cdot 10^{-5}$  М) [3]. Пэтч-пипетки изготавливали из боросиликатных стеклянных капилляров (Sutter Instruments, США) и заполняли раствором (pH 7,2) следующего состава (мМ): KCl – 140;  $MgCl_2$  – 1; ЭГТА – 5; Mg-АТФ – 4;  $Na_2$ -ГТФ – 0,03; Hepes – 10. Сопротивление заполненных пэтч-пипеток составляло  $2,72 \pm 0,47$  МΩ. Протокол изменения мембранного потенциала показан на врезках рисунков.

Амплитуду тока входящего выпрямления  $I_{K1}$  оценивали после вычитания тока, зарегистрированного в присутствии блокатора (1 мМ  $BaCl_2$ ), что позволяло исключить ток утечки. Амплитуду ацетилхолинзависимого тока  $I_{K_{ACH}}$  оценивали как разность суммарного тока входящего выпрямления в присутствии агониста ацетилхолиновых рецепторов (ацетилхолин или карбахол,  $10^{-6}$  М) и в контроле; также ток  $I_{K_{ACH}}$  идентифицировали по чувствительности к его селективному блокатору терциапину ( $10^{-6}$  М). Токи нормировали по емкости клетки. Степень выпрямления тока  $I_{K1}$  оценивали как отношение зарегистрированного в эксперименте тока  $I_{K1}$  к гипотетическому току, не подверженному выпрямлению (см. врезку на рис. 1). Зависимость данного соотношения от мембранного потенциала выражалась функцией Больцмана:

$$\frac{I}{I_{\max}} = \frac{1}{1 + e^{\frac{V - V_{0,5}}{k}}},$$

где  $V$  – поддерживаемый мембранный потенциал,  $V_{0,5}$  – потенциал 50% выпрямления,  $k$  – наклон кривой.

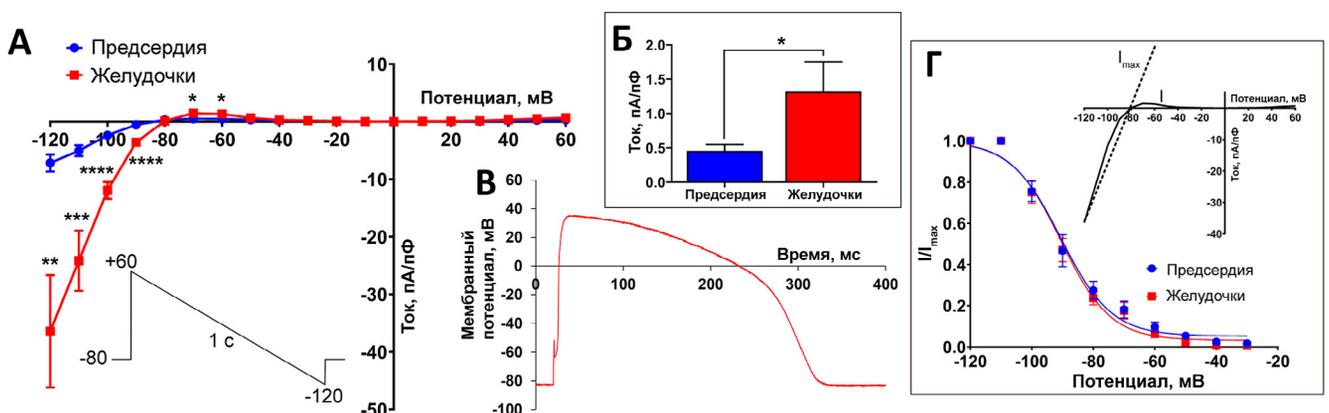
Потенциалы действия регистрировали в изолированных многоклеточных препаратах желудочкового и предсердного миокарда перепела, используя стандартную микроэлектродную технику. Животных декапитировали, сердце извлекали и ретроградно промывали раствором Тироде (мМ): NaCl – 118; KCl – 2,7; MgCl<sub>2</sub> – 1,2; CaCl<sub>2</sub> – 1,8; NaHCO<sub>3</sub> – 25; глюкоза – 11; pH поддерживали на уровне 7,4 азацией карбогеном. В экспериментах были использованы препараты правого предсердия и правого желудочка японского перепела. Препараты миокарда помещали в экспериментальную камеру эндокардиальной стороной вверх и перфузировали раствором Тироде при температуре 42°C. Препараты электрически стимулировали с частотой 6 Гц, что соответствует частоте сердечных сокращений интактных животных [12]. Потенциалы действия регистрировали после периода адаптации препарата (30 мин) с помощью стеклянных микроэлектродов, заполненных 3М раствором KCl (сопротивление электродов 20–50 МΩ) и подключенных к усилителю Model 1600 (A-M Systems, США). Длительность потенциалов действия оценивали на уровне 50% (ДПД50) и 90% (ДПД90) реполяризации.

Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего от  $n$  клеток или препаратов миокарда. Статистическую обработку данных производили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). В зависимости от эксперимента, для оценки статистической значимости различий использовали t-тест Стьюдента для связанных или

несвязанных выборок. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При изменении мембранного потенциала по линейному протоколу от +60 до -120 мВ (рис. 1, см. врезку) в присутствии нифедипина и хроманола в изолированных кардиомиоцитах перепела наблюдался не инактивирующийся со временем ток, характеризующийся выпрямлением входящей компоненты. Форма вольт-амперной характеристики и чувствительность тока к 1 мМ BaCl<sub>2</sub> позволили определить его как фоновый ток входящего выпрямления  $I_{K1}$ . В желудочковых миоцитах амплитуда как входящей, так и выходящей компоненты тока была статистически значимо выше амплитуды тока в предсердных клетках (рис. 1А, Б). Такое соотношение характерно для большинства позвоночных животных, в том числе для человека: амплитуда  $I_{K1}$  в предсердных и желудочковых миоцитах перепела близка к амплитуде  $I_{K1}$  в изолированных кардиомиоцитах человека [9, 13, 14]. Разница в амплитуде тока  $I_{K1}$  между предсердиями и желудочками обеспечивает более отрицательный потенциал покоя в желудочковом миокарде перепела [3]. Стоит отметить, что по сравнению с холоднокровными позвоночными амплитуда  $I_{K1}$  в миокарде перепела весьма велика [6, 13], что может быть механизмом противодействия возникновению аритмий при высокой частоте сердечных сокращений, характерных для птиц. Однако при сравнении с литературными данными касательно распределения тока  $I_{K1}$  в миокарде млекопитающих со сходной частотой сокращения сердца оказывается, что при сходной амплитуде  $I_{K1}$  в желудочковых клетках амплитуда  $I_{K1}$  в предсердиях перепела заметно ниже по сравнению с таковой у мыши и морской свинки [15, 16]. Можно предположить, что в предсердном миокарде перепела роль реполяризационного резерва берут на себя



**Рис. 1.** Фоновый калиевый ток входящего выпрямления  $I_{K1}$  в изолированных кардиомиоцитах перепела. А – вольт-амперные характеристики тока  $I_{K1}$ , зарегистрированного в предсердных ( $n=9$ ) и желудочковых ( $n=8$ ) кардиомиоцитах перепела. Б – средние амплитуды выходящей компоненты тока  $I_{K1}$  в предсердных и желудочковых кардиомиоцитах перепела при потенциале +60 мВ. В – потенциал действия в изолированном желудочковом кардиомиоците перепела. Г – зависимость степени выпрямления тока  $I_{K1}$  в предсердных и желудочковых миоцитах перепела от поддерживаемого потенциала. \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ; \*\*\*\* –  $p < 0,0001$ ; t-тест Стьюдента для несвязанных выборок.

другие токи – например, медленный ток задержанного выпрямления, имеющий большую амплитуду, но при этом слабо задействованный в норме. С другой стороны, более низкая по сравнению с таковой у грызунов амплитуда  $I_{K1}$  в предсердиях перепела может быть обусловлена филогенетически.

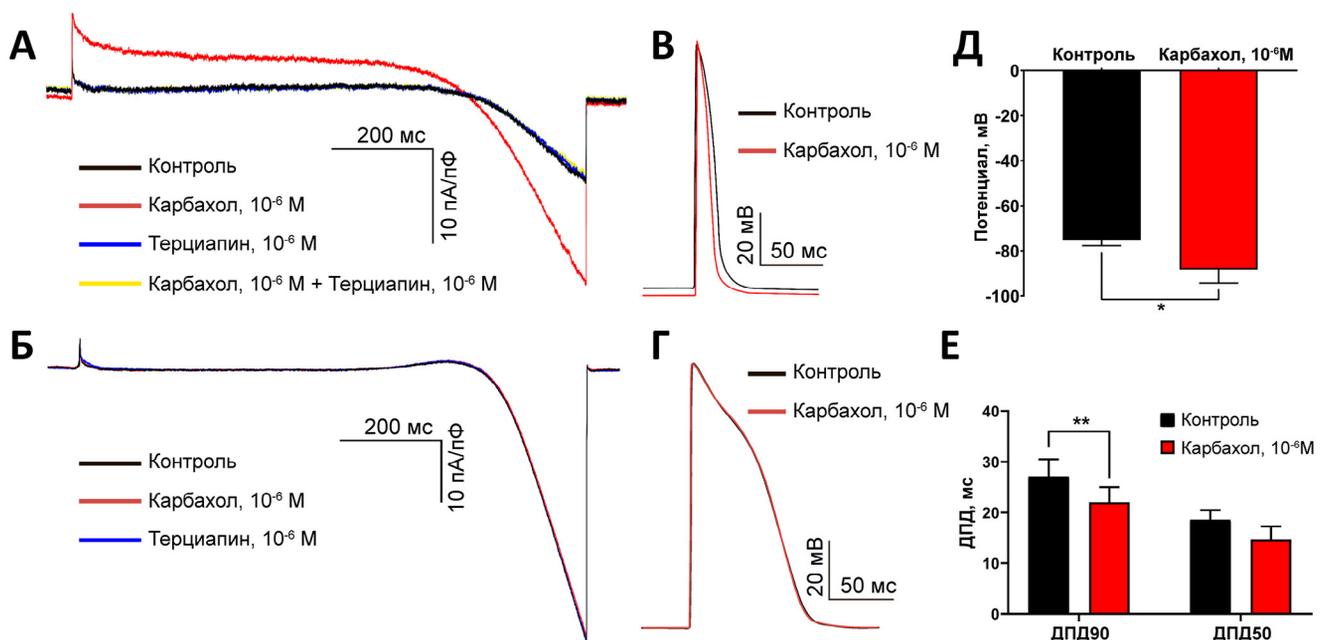
Большая амплитуда тока  $I_{K1}$  позволяла изолированным желудочковым кардиомиоцитам перепела поддерживать негативный мембранный потенциал в режиме current clamp, что, в свою очередь, делало возможным регистрацию потенциалов действия в отдельных миоцитах (рис. 1В). Однако в случае предсердных кардиомиоцитов из-за низкой амплитуды  $I_{K1}$  запись потенциалов действия методом пэтч-кламп была невозможной, поэтому в дальнейших экспериментах потенциалы действия регистрировали с использованием стандартной микроэлектродной техники.

Зависимость степени выпрямления тока  $I_{K1}$  от поддерживаемого потенциала не различалась между желудочковыми и предсердными кардиомиоцитами (рис. 1Г): потенциал 50% выпрямления  $V_{0.5}$  в желудочковых клетках составил  $-90,51$  мВ, а в предсердных –  $-90,49$  мВ. Поскольку суммарный ток  $I_{K1}$  может быть опосредован несколькими изоформами каналов, характеризующимися разной степенью выпрямления тока [17], можно предполагать, что набор изоформ каналов данного семейства не различается между желудочковыми и предсердными кардиомиоцитами перепела – однако данное утверждение тре-

бует дальнейшей проверки с использованием молекулярно-биологических методов.

Карбахол (негидролиземый аналог ацетилхолина) в концентрации  $10^{-6}$  М вызывал увеличение как входящей, так и выходящей компоненты суммарного тока входящего выпрямления в предсердных (рис. 2А), но не в желудочковых (рис. 2Б) кардиомиоцитах перепела. Активируемый карбахолом в предсердных кардиомиоцитах ток был чувствителен к селективному блокатору тока  $I_{KACH}$  терциапину ( $10^{-6}$  М), что позволяет идентифицировать его как  $I_{KACH}$  [9]. В отсутствие каких-либо других внешних воздействий терциапин не индуцировал изменения суммарного тока входящего выпрямления как в предсердных, так и в желудочковых кардиомиоцитах, что свидетельствует об отсутствии конститутивно активного тока  $I_{KACH}$ . Карбахол вызывал гиперполяризацию и укорочение потенциалов действия (рис. 2В, Д, Е) в изолированных препаратах правого предсердия перепела, в то время как в препаратах желудочкового миокарда карбахол не вызывал аналогичных изменений в электрической активности (рис. 2Г).

Относительно высокая частота сокращений сердца птиц в сочетании с достаточно малой амплитудой быстрого тока задержанного выпрямления  $I_{Kr}$  [3] позволяет предположить, что в реполяризации миокарда перепела могут участвовать другие токи – например, конститутивно активный ток  $I_{KACH}$ . Это предположение не подтвердилось, однако, возможно, в миокарде птиц, как и в миокарде млекопитающих, конститутивно активный



**Рис. 2.** Ацетилхолинзависимый ток  $I_{KACH}$  в рабочем миокарде перепела: оригинальные записи суммарного тока входящего выпрямления в предсердных (А) и желудочковых (Б) миоцитах перепела в контрольных условиях, в присутствии агониста ацетилхолинзависимых рецепторов карбахола ( $10^{-6}$  М) и/или селективного блокатора тока  $I_{KACH}$  терциапина ( $10^{-6}$  М); оригинальные записи потенциалов действия предсердного (В) и желудочкового (Г) миокарда в контрольных условиях и в присутствии 1 мкМ карбахола; мембранный потенциал покоя (Д) и длительность потенциалов действия (Е) в предсердном миокарде в контрольных условиях и в присутствии  $10^{-6}$  М карбахола ( $n = 6$ ). \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; t-тест Стьюдента для связанных выборок

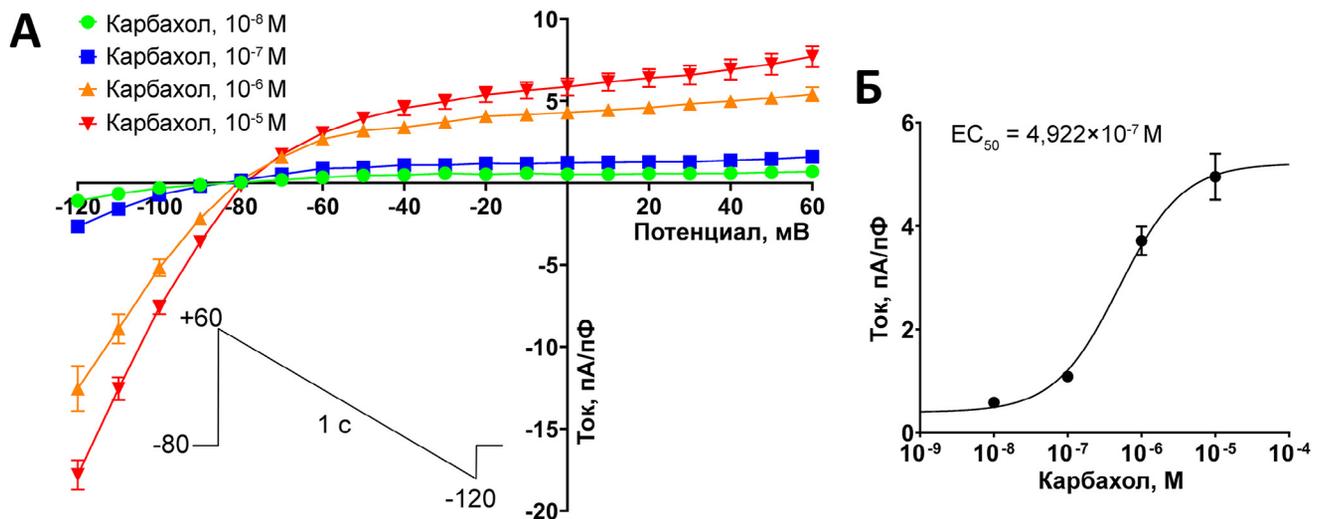


Рис. 3. Ацетилхолинзависимый ток  $I_{K_{ACh}}$  в предсердных кардиомиоцитах перепела. А – вольт-амперные характеристики тока  $I_{K_{ACh}}$  в присутствии карбахола в концентрациях  $10^{-8}$  ( $n = 6$ ),  $10^{-7}$  ( $n = 7$ ),  $10^{-6}$  ( $n = 8$ ) и  $10^{-5}$  М ( $n = 7$ ). Б – кривая дозозависимости тока  $I_{K_{ACh}}$  от концентрации карбахола при потенциале  $-30$  мВ.

ток  $I_{K_{ACh}}$  может принимать участие в развитии патологических состояний – например, при фибрилляции предсердий [9]. Распределение каналов тока  $I_{K_{ACh}}$  в рабочем миокарде перепела – наличие их в предсердиях и отсутствие в желудочках – также характерно для большинства позвоночных животных [6, 9, 18]. Недавние исследования, однако, говорят о возможной минорной экспрессии каналов тока  $I_{K_{ACh}}$  в желудочковых кардиомиоцитах некоторых видов млекопитающих: каналы тока  $I_{K_{ACh}}$  были обнаружены в желудочковых кардиомиоцитах крыс и человека [19, 20]. Таким образом, нельзя исключать возможность обнаружения данных каналов в желудочковом миокарде птиц:  $I_{K_{ACh}}$  может быть замаскирован большим фоновым током  $I_{K1}$  в норме и активироваться только при условии подавления последнего, функционируя как механизм противодействия аритмиям [21]. Кроме того, нельзя исключать возможность гетерогенного распределения каналов  $I_{K_{ACh}}$ : так, в человеческом миокарде желудочков каналы  $I_{K_{ACh}}$  отсутствуют в срединном слое миокарда [20], а при выделении изолированных кардиомиоцитов основная масса клеток относится именно к этой популяции.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shiels H.A., Galli G.L.J. The sarcoplasmic reticulum and the evolution of the vertebrate heart // *Physiology*. 2014. Vol. 29. N 6. P. 456–469.
2. Jensen B., Wang T., Christoffels V.M., Moorman A.F.M. Evolution and development of the building plan of the vertebrate heart // *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell Res.* 2013. Vol. 1833. N 4. P. 783–794.
3. Filatova T.S., Abramochkin D. V., Pavlova N.S., Pustovit K.B., Konovalova O.P., Kuzmin V.S., Dobrzynski H. Repolarizing potassium currents in working myocardium of Japanese quail: Novel translational model for cardiac

Активация тока  $I_{K_{ACh}}$  в предсердных кардиомиоцитах перепела под действием карбахола была дозозависимой (рис. 3А). Концентрация полуингибирования  $EC_{50}$  составила  $4,922 \cdot 10^{-7}$  М (рис. 3Б). Это значение близко к значениям  $EC_{50}$ , полученным в исследованиях на других видах животных, включая млекопитающих, в том числе и человека [22, 23]. Амплитуда входящей и выходящей компоненты тока  $I_{K_{ACh}}$  в предсердных миоцитах также была сопоставима с данными, полученными в работах на других видах животных [23, 24].

Таким образом, распределение и характеристики основных токов входящего выпрямления в рабочем миокарде перепела близки к таковым у большинства позвоночных животных, в особенности – млекопитающих.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-34-90142). Все эксперименты проводили в соответствии с директивой 86/609/ЕЕС по обращению с лабораторными животными. Авторы заявляют, что у них отсутствует конфликт интересов.

electrophysiology // *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 2021. Vol. 255: 110919.

4. Filatova T.S., Abramochkin D. V., Shiels H.A. Warmer, faster, stronger:  $Ca^{2+}$  cycling in avian myocardium // *J. Exp. Biol.* 2020. Vol. 223. N 19: jeb228205.

5. Vornanen M., Hassinen M., Haverinen J. Tetrodotoxin sensitivity of the vertebrate cardiac  $Na^{+}$  current // *Mar. Drugs*. 2011. Vol. 9. N 11. P. 2409–2422.

6. Abramochkin D. V., Matchkov V., Wang T. A characterization of the electrophysiological properties of

the cardiomyocytes from ventricle, atrium and sinus venosus of the snake heart // *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 2020. Vol. 190. N 1. P. 63–73.

7. *Cavero I., Crumb W.* Native and cloned ion channels from human heart: laboratory models for evaluating the cardiac safety of new drugs // *Eur. Hear. J. Suppl.* 2001. Vol. 3. Suppl. K. P. K53–K63.

8. *Jost N., Virág L., Bitay M., Takács J., Lengyel C., Biliczki P., Nagy Z., Bogáts G., Lathrop D.A., Papp J.G., Varró A.* Restricting excessive cardiac action potential and QT prolongation: A vital role for  $I_{Ks}$  in human ventricular muscle // *Circulation.* 2005. Vol. 112. N 10. P. 1392–1399.

9. *Ehrlich J.R.* Inward rectifier potassium currents as a target for atrial fibrillation therapy // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2008. Vol. 52. N 2. P. 129–135.

10. *Klein M.G., Shou M., Stohlman J., Solhjo S., Haigney M., Tidwell R.R., Goldstein R.E., Flagg T.P., Haigney M.C.* Role of suppression of the inward rectifier current in terminal action potential repolarization in the failing heart // *Heart Rhythm.* 2017. Vol. 14. N 8. P. 1217–1223.

11. *Isenberg G., Klockner U.* Calcium tolerant ventricular myocytes prepared by preincubation in a “KB medium” // *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* 1982. Vol. 395. N 1. P. 6–18.

12. *Valance D., Després G., Richard S., Constantin P., Mignon-Grasteau S., Leman S., Boissy A., Faure J.M., Leterrier C.* Changes in heart rate variability during a tonic immobility test in quail // *Physiol. Behav.* 2008. Vol. 93. N 3. P. 512–520.

13. *Haverinen J., Vornanen M.* Responses of action potential and  $K^+$  currents to temperature acclimation in fish hearts: phylogeny or thermal preferences? // *Physiol. Biochem. Zool.* 2009. Vol. 82. N 5. P. 468–482.

14. *Varro A., Nanasi P.P., Lathrop D.A.* Potassium currents in isolated human atrial and ventricular cardiocytes // *Acta Physiol. Scand.* 1993. Vol. 149. N 2. P. 133–142.

15. *Panama B.K., McLerie M., Lopatin A.N.* Heterogeneity of  $I_{K1}$  in the mouse heart // *Am. J. Physiol. Hear. Circ. Physiol.* 2007. Vol. 293. N 6. P. H3558–H3567.

16. *Ward C.A., Ma Z., Lee S.S., Giles W.R.* Potassium currents in atrial and ventricular myocytes from a rat model of cirrhosis // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1997. Vol. 273. N 2. P. G537–G544.

17. *Hassinen M., Haverinen J., Hardy M.E., Shields H.A., Vornanen M.* Inward rectifier potassium current ( $I_{K1}$ ) and Kir2

composition of the zebrafish (*Danio rerio*) heart // *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* 2015. Vol. 467. N 12. P. 2437–2446.

18. *Skarsfeldt M.A., Bomholtz S.H., Lundegaard P.R., Lopez-Izquierdo A., Tristani-Firouzi M., Bentzen B.H.* Atrium-specific ion channels in the zebrafish—A role of  $I_{KACH}$  in atrial repolarization // *Acta Physiol.* 2018. Vol. 223. N 3: e13049.

19. *Dobrzynski H., Marples D.D.R., Musa H., Yamanushi T.T., Henderson Z., Takagishi Y., Honjo H., Kodama I., Boyett M.R.* Distribution of the muscarinic  $K^+$  channel proteins Kir3.1 and Kir3.4 in the ventricle, atrium, and sinoatrial node of heart // *J. Histochem. Cytochem.* 2001. Vol. 49. N 10. P. 1221–1234.

20. *Liang B., Nissen J.D., Laursen M., Wang X., Skibsbjerg L., Hearing M.C., Andersen M.N., Rasmussen H.B., Wickman K., Grønnet M., Olesen S.-P., Jespersen T.* G-protein-coupled inward rectifier potassium current contributes to ventricular repolarization // *Cardiovasc. Res.* 2014. Vol. 101. N 1. P. 175–184.

21. *Beckmann C., Rinne A., Littwitz C., Mintert E., Bosche L.I., Kienitz M.-C., Pott L., Bender K.* G Protein-Activated (GIRK) Current in Rat Ventricular Myocytes is Masked by Constitutive Inward Rectifier Current ( $I_{K1}$ ) // *Cell. Physiol. Biochem.* 2008. Vol. 21. N 4. P. 259–268.

22. *Dobrev D., Graf E., Wettwer E., Himmel H.M., Hála O., Doerfel C., Christ T., Schüler S., Ravens U.* Molecular basis of downregulation of G-protein-coupled inward rectifying  $K^+$  current ( $I_{KACH}$ ) in chronic human atrial fibrillation decrease in GIRK4 mRNA correlates with reduced  $I_{KACH}$  and muscarinic receptor-mediated shortening of action potentials // *Circulation.* 2001. Vol. 104. N 21. P. 2551–2557.

23. *Abramochkin D. V., Vornanen M.* Seasonal changes of cholinergic response in the atrium of Arctic navaga cod (*Eleginus navaga*) // *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 2017. Vol. 187. N 2. P. 329–338.

24. *Lomax A.E., Rose R.A., Giles W.R.* Electrophysiological evidence for a gradient of G protein-gated  $K^+$  current in adult mouse atria // *Br. J. Pharmacol.* 2003. Vol. 140. N 3. P. 576–584.

Поступила в редакцию 20.03.2021 г.

После доработки 22.04.2021 г.

Принята в печать 26.04.2021 г.

## RESEARCH ARTICLE

# Inward rectifier currents $I_{K1}$ and $I_{KACH}$ in working myocardium of Japanese quail (*Coturnix japonica*)

T.S. Filatova<sup>1,2,3,\*</sup> , D.V. Abramochkin<sup>1,2,3</sup> 

<sup>1</sup>Department of Human and Animal Physiology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory, 1–12, Moscow, 119234, Russia;

<sup>2</sup>Laboratory of Cardiac Electrophysiology, National Medical Research Center for Cardiology,

<sup>3</sup>Cherepkovskaya str., 15A, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovityanova str., 1, Moscow, Russia

\*e-mail: filatova@mail.bio.msu.ru

Birds acquired endothermy and four-chambered heart independently from mammals in the course of evolution. Though avian embryos are widely used in experiments, little is known about adult avian heart. Recent studies have shown that despite of big evolutionary distance, the set of

repolarizing potassium currents in avian myocardium resembles that in mammalian heart as well as in humans. That allows to propose birds as a potential model in experimental cardiology. The present study for the first time describes inward rectifier potassium currents in working myocardium of quail. Using patch clamp method, we recorded main background inward rectifier current  $I_{K1}$  in isolated atrial and ventricular cardiomyocytes of quail. Both inward and outward components of  $I_{K1}$  in ventricular cells were larger than those in atrial cells, while there were no differences in voltage dependence of inward rectification. Acetylcholine and carbachol induced activation of acetylcholine-dependent inward rectifier current  $I_{KACH}$  in atrial, but not in ventricular myocytes.  $I_{KACH}$  in atrial myocytes was sensitive to tertiapin. Constitutively active  $I_{KACH}$  has not been detected. In multicellular preparations of quail right atrium carbachol induced hyperpolarization and shortening of action potentials, while in preparations of right ventricle no such effects were observed. Activation of  $I_{KACH}$  upon application of carbachol was dose-dependent with  $EC_{50}=4,922 \cdot 10^{-7}$  M. The described distribution of inward rectifier currents in avian myocardium is similar to that in mammalian species, which are widely used as model objects in experimental cardiology.

**Keywords:** *birds, working myocardium, bioelectrical activity, isolated cardiomyocytes, patch clamp, ionic currents*

**Funding:** The research was funded by Russian Foundation for Basic Research, project number 19-34-90142.

#### **Сведения об авторах**

*Филатова Татьяна Сергеевна* — мл. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ; лаборант-исследователь лаборатории электрофизиологии сердца Национального медицинского исследовательского центра кардиологии; мл. науч. сотр. кафедры физиологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-929-515-25-78; e-mail: [filatova@mail.bio.msu.ru](mailto:filatova@mail.bio.msu.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0131-1911>

*Абрамочкин Денис Валерьевич* — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ; зав. лабораторией электрофизиологии сердца Национального медицинского исследовательского центра кардиологии; профессор кафедры физиологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-916-603-05-02; e-mail: [abram340@mail.ru](mailto:abram340@mail.ru); ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5751-8853>