
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО АЦИДОЗА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ
ВКЛАД K_{ATP} И TASK-1 КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ В РЕГУЛЯЦИЮ
СОСУДИСТОГО ТОНУСА В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

© 2024 г. А. А. Швецова¹, А. А. Борзых^{1,2}, Д. К. Гайнуллина^{1,*}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

*E-mail: Dina.Gaynullina@gmail.com

Поступила в редакцию 19.09.2023 г.

После доработки 20.11.2023 г.

Принята к публикации 29.11.2023 г.

Активность многих белков и, как следствие, механизмов регуляции тонуса сосудов зависит от pH. Снижение pH (при некомпенсированном ацидозе), как правило, вызывает расслабление сосудов, что достаточно подробно изучено для взрослого половозрелого организма. Однако влияние ацидоза на механизмы регуляции сосудистого тонуса в раннем постнатальном периоде остается практически неисследованным. Целью данной работы было исследование влияния внеклеточного метаболического ацидоза на функциональный вклад калиевых каналов K_{ATP} и TASK-1 в регуляцию сосудистого тонуса в раннем постнатальном периоде. В работе моделировали некомпенсированный внеклеточный метаболический ацидоз (pH 6.8, эквимоллярная замена $NaHCO_3$ на $NaCl$ в растворе) и исследовали сократительные реакции подкожной артерии у крыс в возрасте 3–4 месяцев и крысят в возрасте 12–15 дней в изометрическом режиме. Оказалось, что сокращение артерий в ответ на действие агониста α_1 -адренорецепторов метоксамина при pH 6.8 снижено по сравнению с нормальным pH 7.4 как у крыс в возрасте 3–4 месяцев, так и у 12–15-дневных животных. Блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид не приводил к изменению реакций артерий на метоксамин ни при pH 7.4, ни при pH 6.8 ни в одной из возрастных групп. Блокатор TASK-1-каналов AVE1231 не изменял сократительные реакции артерий ни при одном из pH у крыс в возрасте 3–4 месяцев. Однако у 12–15-дневных крысят прирост сократительных ответов на метоксамин под влиянием AVE1231 был меньше при pH 6.8, чем при pH 7.4. Таким образом, результаты данной работы демонстрируют, что ацидоз уменьшает сократительную активность артерий животных в возрасте 3–4 месяцев и животных в период раннего постнатального онтогенеза, при этом у последних антиконстрикторное влияние каналов TASK-1 снижается, а K_{ATP} -каналы не оказывают влияния на регуляцию тонуса сосудов ни при нормальном, ни при кислом значении pH ни в одной из возрастных групп.

Ключевые слова: ацидоз, артерия, калиевые каналы, АТФ-чувствительные калиевые каналы, каналы TASK-1, гладкая мышца, ранний постнатальный онтогенез

ВВЕДЕНИЕ

Активность большинства белков, а, следовательно, и многих механизмов регуляции тонуса сосудов зависит от кислотности среды, мерой которой является показатель pH. За счет работы буферных систем в норме pH артериальной крови близок к значению 7.4. Закисление крови до значений ниже 7.38 обозначают как состояние некомпенсированного ацидоза [1]. Как правило, закисление приводит к снижению тонуса сосудов [2, 3]. Стоит отметить, что механизмы расслабления сосудов при снижении pH во взрослом половозрелом организме изучены достаточно подробно [4, 5], чего нельзя сказать о периоде раннего постнатального онтогенеза. Ранее нами было показано, что некомпенсированный метаболический ацидоз вызывает уменьшение сократительных реакций подкожных артерий с интактным эндотелием у 12–15-дневных крысят, что связано с усилением антиконстрикторной роли эндотелиального оксида азота [3]. Вместе с тем остается практически неизученным, как в условиях сниженного pH изменяется активность механизмов, присущих гладкомышечным клеткам сосудов, в период раннего постнатального онтогенеза. Важно отметить, что состояние некомпенсированного ацидоза часто возникает у новорожденных детей в результате неонатальной гипоксии (асфиксии) [6]. Данный факт указывает на необходимость всестороннего изучения влияния закисления внеклеточной среды на тонус сосудов в период раннего постнатального онтогенеза.

Одним из механизмов, способствующих расслаблению сосудов при закислении внеклеточной среды, может быть активация калиевых каналов гладкомышечных клеток, что смещает уровень мембранного потенциала в сторону более отрицательных значений, приводя к закрытию потенциал-управляемых кальциевых каналов и, соответственно, снижению внутриклеточной концентрации кальция. Основываясь на работах, исследующих влияние снижения pH на сократительную активность артерий половозрелого организма, наиболее вероятными кандидатами на роль калиевых каналов, активирующихся при закислении, являются K_{ATP} . Отметим, что, согласно данным литературы, функциональный вклад этих каналов в регуляцию сосудистого тонуса в нормальных физиологических условиях проявляется довольно редко [7]. Однако в патологических условиях, в условиях метаболических нарушений, в том числе при смещении кислотно-щелочного равновесия в сторону низких значений pH, их регуляторный вклад существенно возрастает. Действительно, было показано, что снижение pH вызывает активацию K_{ATP} -каналов в изолированных гладкомышечных клетках артерий брыжейки крыс [8]. Кроме того, расслабление артерий мозга, сердца и аорты половозрелых крыс, а также внутренней грудной артерии человека в условиях закисления внеклеточной среды происходит в том числе из-за активации каналов K_{ATP} [9–12]. Однако влияние пониженного pH внеклеточной среды на функциональный вклад K_{ATP} в регуляцию тонуса сосудов в период раннего постнатального онтогенеза ранее не было изучено.

Помимо K_{ATP} , к изменению pH чувствительны каналы TASK-1 (the weak inward-rectifying K^+ (TWIK)-related acid-sensitive K^+ -channel). Каналы TASK-1 являются представителями одного из классов калиевых каналов, имеющих две порообразующие петли (K_{2P}), эти каналы опосредуют ток утечки в гладкомышечных клетках артерий [13, 14]. Показано, что закисление среды подавляет активность каналов TASK-1, тем самым способствуя сокращению гладкой мышцы [15–17]. Примечательно, что каналы TASK-1 обладают более выраженным антиконстрикторным (т.е. противодействующим сокращению) влиянием в артериях в период раннего постнатального онтогенеза по сравнению со взрослым возрастом [18]. Однако чувствительность каналов TASK-1 к внеклеточному pH в раннем постнатальном периоде до этого не была исследована.

Исходя из вышесказанного, снижение внеклеточного pH, с одной стороны, может подавлять ярко выраженное антиконстрикторное влияние каналов TASK-1 в артериях в ранний постнатальный период, а, с другой стороны, приводить к компенсаторной активации антиконстрикторного пути, реализующегося путем активации K_{ATP} -каналов.

Таким образом, целью данной работы было исследование влияния внеклеточного некомпенсированного метаболического ацидоза на функциональный вклад $K_{\text{АТР}}$ -и TASK-1-каналов в регуляцию сосудистого тонуса в раннем постнатальном онтогенезе. Для сравнения с крысами в раннем постнатальном периоде (в возрасте 12–15 дней) в работе использовали крыс в возрасте 3–4 месяцев. Объектом исследования служила подкожная артерия – сосуд мышечного типа, вносящий существенный вклад в регуляцию кожного кровотока, который составляет до 20% от сердечного выброса у новорожденных [19].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Работу проводили на крысах Wistar из питомника НИИ Общей патологии и патофизиологии. Половозрелых самцов и самок крыс содержали в стандартных условиях вивария биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Доступ к пище и воде у животных был свободным; соблюдали световой режим день/ночь длительностью по 12 ч каждый. С целью получения потомства самцов и самок крыс помещали в одну клетку на 4 дня. Всего в работе было использовано потомство от 12 самок. На следующий день после родов ограничивали размер помета до 8 крысят.

Эксперименты проводили на самцах крыс в возрасте 3–4 месяцев, а также на крысах мужского пола в возрасте 12–15 дней. Для проведения исследований на изолированных артериях животных декапитировали (крыс в возрасте 3–4 месяцев предварительно анестезировали с использованием CO_2), после чего выделяли подкожную артерию (сосуд мышечного типа, питающий кровью кожу плюсны и стопы). Выделение артерий проводили в растворе для препаровки (в mM): NaCl – 145; KCl – 4.5; CaCl_2 – 0.1; MgSO_4 – 1.0; NaH_2PO_4 – 1.2; EDTA – 0.025; HEPES – 5.0; pH 7.4.

Эксперименты на изолированных сосудах

Для проведения экспериментов на изолированных сосудах использовали многоканальные миографы (модели 410A, 420M или 620M, DMT, Дания). Для регистрации сократительной активности в изометрическом режиме из артерий вырезали кольцевые сегменты длиной по 2 мм и закрепляли их в каналах миографа, заполненных раствором для препаровки. Затем проводили удаление эндотелия, совершая вращательные движения внутри сосуда крысиным усом. Оцифровку сигнала проводили с частотой 10 Гц с использованием аналого-цифрового преобразователя (E14-140, L-CARD, Россия). Запись сигнала осуществляли в программе PowerGraph 3.3 (ДИСофт, Россия). После того как камеры с препаратами нагревались до 37°C, проводили процедуру нормализации, в ходе которой определяли растяжение препарата, оптимальное для проявления сократительной активности [20]. После этого раствор в камере миографа сменяли на рабочий (в mM): NaCl – 120; NaHCO_3 – 26; KCl – 4.5; CaCl_2 – 1.6; MgSO_4 – 1.0; NaH_2PO_4 – 1.2; D-глюкоза – 5.5; EDTA – 0.025; HEPES – 5. Раствор непрерывно азиривали карбогеном (95% O_2 + 5% CO_2) для оксигенации и поддержания pH 7.4.

В начале каждого эксперимента проводили процедуру активации препаратов, заключающуюся в добавлении вазоактивных веществ с последующей отмывкой. Сначала к препаратам добавляли норэпинефрин (10 мкМ, длительность воздействия 5 мин); затем агонист α_1 -адренорецепторов метоксамин (10 мкМ, длительность воздействия 5 мин), на фоне действия которого проводили оценку эндотелиальной функции с помощью ацетилхолина (10 мкМ, длительность воздействия 2 мин); в конце процедуры активации вновь добавляли метоксамин (10 мкМ, длительность воздействия 5 мин). Отсутствие расслабления на ацетилхолин свидетельствовало об успешном удалении

эндотелия. Для всех воздействий в ходе эксперимента длительность отмытки составляла 15 мин, во время отмытки раствор в камере миографа меняли минимум 5 раз.

Протокол эксперимента состоял из двух последовательных зависимостей “концентрация – эффект” на метоксамин (диапазон концентраций 10 нМ – 100 мкМ, длительность действия каждой концентрации 2 мин.). Первую зависимость “концентрация – эффект” на метоксамин проводили через 20 мин. после окончания процедуры активации препарата. Первая зависимость “концентрация – эффект” на метоксамин использовалась для того, чтобы убедиться, что исходная реактивность препаратов внутри одной возрастной группы животных не различалась. После отмытки раствор в камерах миографа сменяли на рабочий раствор с pH 7.4 (состав см. выше). В другой половине препаратов раствор сменяли на рабочий раствор с pH 6.8 (эквимоллярная замена NaHCO_3 на NaCl), содержащий: (в мМ) NaCl 140.5; NaHCO_3 5.5; KCl 4.5; CaCl_2 1.6; MgSO_4 1.0; NaH_2PO_4 1.2; D-глюкоза 5.5; ЭДТА 0.025; HEPES 5.0. Значение pH в камере раствора проверяли с использованием портативного pH-метра (Mettler Toledo). Через 10 мин. к части препаратов добавляли блокаторы калиевых каналов: 3 мкМ глибенкламида (для K_{ATP} -каналов) или 1 мкМ AVE1231 (для TASK-1-каналов). К оставшейся части препаратов добавляли эквивалентный объем растворителя (ДМСО, 5 мкл). Через 20 мин были получены вторые зависимости “концентрация – эффект” на метоксамин, которые представлены на рисунках.

При обработке результатов из значения силы при каждой концентрации метоксамин вычитали значение “пассивной” силы, соответствующее полному расслаблению гладкой мышцы препарата (в растворе для препаровки после окончания процедуры нормализации). Полученные значения активной силы выражали в % от максимальной силы сокращения препарата, определенной по первой зависимости “концентрация – эффект”. Для оценки эффекта ингибитора в программе GraphPad Prism 7.0 (La Jolla, CA, США) рассчитывали площади под индивидуальными кривыми “концентрация – эффект”, после чего площадь в присутствии ингибитора выражали в процентах от соответствующих значений площади в присутствии растворителя.

В работе использовали норэпинефрин, метоксамин, ацетилхолин, глибенкламид фирмы Sigma-Aldrich, AVE1231 был предоставлен компанией Sanofi.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов проводили в программе GraphPad Prism 7.0. Нормальность распределения проверяли с использованием теста Шапиро-Уилка. Использовали двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений (сравнение кривых на графиках, представленных на рис. 1–5) или непарный *t*-критерий Стьюдента (сравнение площадей под кривыми “концентрация – эффект”). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Все данные представлены как среднее $\pm$ $\pm$ ошибка среднего, n – количество животных в группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Внеклеточный ацидоз приводит к уменьшению сократительных ответов артерий у крыс в возрасте 3–4 месяцев и 12–15 дней.

При измерении pH раствора в камере миографа были получены следующие значения pH: 7.39 ± 0.10 (группа pH 7.4, $n = 7$); 6.80 ± 0.11 (группа pH 6.8, $n = 8$). При pH 6.8 сократительные реакции на метоксамин артерий как у крыс в возрасте 3–4 месяцев (рис. 1a), так и 12–15-дневных (рис. 1b) крыс были существенно слабее, чем при pH 7.4.

Ацидоз не приводит к изменению вклада K_{ATP} -каналов в регуляцию тонуса артерий у крыс в возрасте 3–4 месяцев и 12–15 дней.

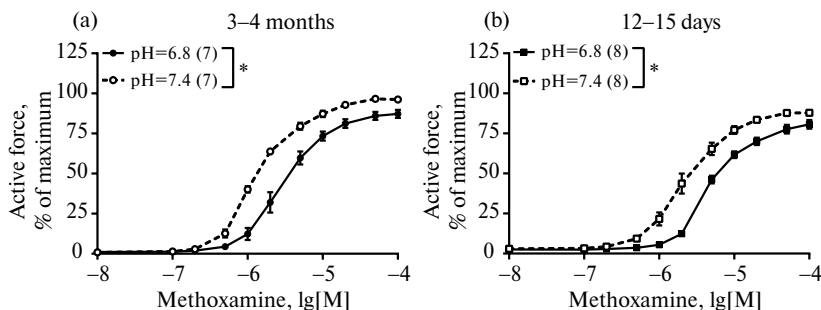


Рис. 1. Влияние внеклеточного ацидоза (pH 6.8) на сократительные ответы подкожной артерии на метоксамин у крыс в возрасте 3–4 месяцев (а) и 12–15 дней (б). Числа в скобках обозначают количество животных в группе. * $p < 0.05$ (двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений).

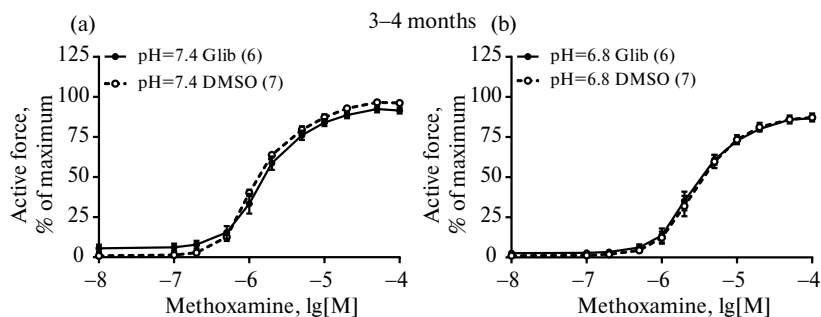


Рис. 2. Влияние блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида на сократительные ответы подкожной артерии на метоксамин у крыс в возрасте 3–4 месяцев при pH 7.4 (а) и pH 6.8 (б). Числа в скобках обозначают количество животных в группе.

На следующем этапе мы оценивали вклад K_{ATP} -каналов в регуляцию тонуса артерий у крыс в возрасте 3–4 месяцев и 12–15 дней при нормальном pH и при pH 6.8. У крыс в возрасте 3–4 месяцев блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид не изменял сократительные ответы артерий на метоксамин ни при pH 7.4 (рис. 2а), ни при pH 6.8 (рис. 2б).

Так же, как и у крыс в возрасте 3–4 месяцев, глибенкламид не вызывал изменения сократительных ответов на метоксамин у 12–15-дневных крысят ни при pH 7.4 (рис. 3а), ни при pH 6.8 (рис. 3б).

Ацидоз приводит к уменьшению вклада TASK-1-каналов в регуляцию тонуса артерий у 12–15-дневных крыс.

На последнем этапе работы мы оценивали вклад каналов TASK-1 в регуляцию тонуса артерий у крыс в возрасте 3–4 месяцев и 12–15-дневных крыс при нормальном pH и при pH 6.8. У крыс в возрасте 3–4 месяцев блокатор TASK-1-каналов AVE1231 не изменял сократительные ответы артерий на метоксамин ни при pH 7.4 (рис. 4а), ни при pH 6.8 (рис. 4б).

У 12–15-дневных крысят AVE1231 приводил к существенному усилению сократительных ответов артерий на метоксамин при pH 7.4 (рис. 5а). При pH 6.8 AVE1231 также вызывал прирост сократительных ответов на метоксамин (рис. 5б), который, однако, был меньше, чем при нормальном pH. Для того, чтобы сравнить эффекты AVE1231 при pH 7.4 и при pH 6.8, мы оценивали изменение площади под кривыми в присутствии AVE1231 в процентах от площади в присутствии растворителя при каждом pH. Оказалось, что при pH 7.4 площадь в присутствии AVE1231 составила $164 \pm 10\%$ от площади

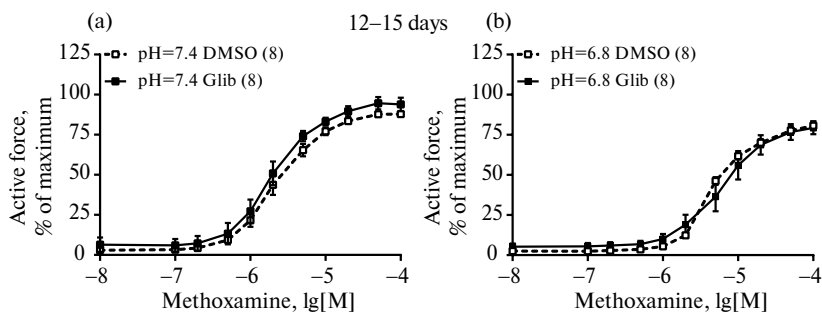


Рис. 3. Влияние блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида на сократительные ответы подкожной артерии на метоксамин у 12–15-дневных крысят при pH 7.4 (a) и pH 6.8 (b). Числа в скобках обозначают количество животных в группе.

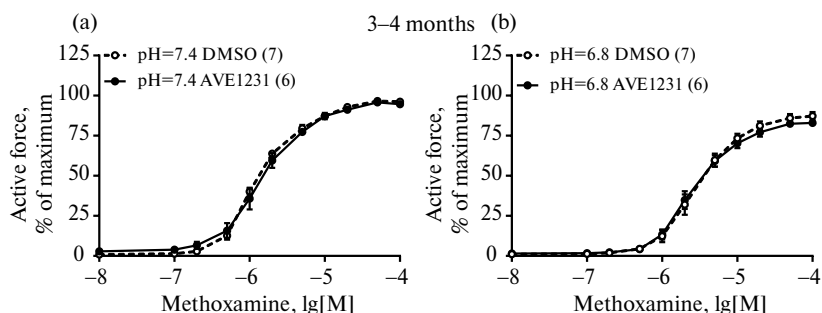


Рис. 4. Влияние блокатора TASK-1-каналов AVE1231 на сократительные ответы подкожной артерии на метоксамин у крыс в возрасте 3–4 месяцев при pH.

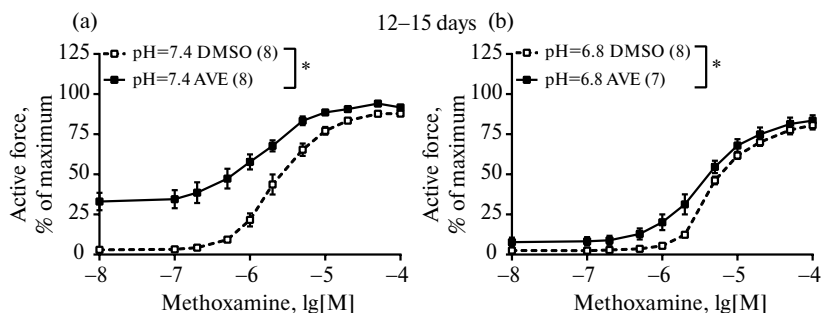


Рис. 5. Влияние блокатора TASK-1-каналов AVE1231 на сократительные ответы подкожной артерии на метоксамин у 12–15-дневных крысят при pH 7.4 (a) и pH 6.8 (b). Числа в скобках обозначают количество животных в группе. * $p < 0.05$ (двухфакторный дисперсионный анализ для повторных измерений). 7.4 (a) и pH 6.8 (b). Числа в скобках обозначают количество животных в группе.

в присутствии ДМСО, а при pH 6.8 площадь в присутствии AVE1231 составила $128 \pm 12\%$ от площади в присутствии ДМСО ($p < 0.05$, непарный t -критерий Стьюдента). Следовательно, мы можем сделать вывод, что при более кислом pH влияние AVE1231 на сократительные ответы артерий на метоксамин у 12–15-дневных крысят оказываются меньше, чем при нормальном pH.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В рамках данной работы нами было проведено исследование роли K_{ATP} и TASK-1 калиевых каналов в регуляции сократительных ответов артерий при некомпенсированном внеклеточном ацидозе у 12–15-дневных крыс и крыс в возрасте 3–4 месяцев. Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что внеклеточный метаболический ацидоз подавляет сократительные ответы резистивных артерий как у крыс в возрасте 3–4 месяцев, так и у крысят в возрасте 12–15 дней. Эти данные хорошо соотносятся с имеющимися данными литературы, где в подавляющем большинстве работ снижение pH также угнетало сократительную активность резистивных артерий. Например, ранее было показано, что закисление pH уменьшает сокращение артерий брыжейки [21, 22], мозговых артерий [23–25], артерий сетчатки [26], артерий молочной железы [11] и артерий скелетных мышц [27] у взрослых половозрелых животных. В то же время необходимо отметить, что онтогенетический аспект влияния некомпенсированного метаболического ацидоза на сократительную активность артерий изучен значительно хуже. В частности, ранее было показано, что респираторный (не метаболический) ацидоз приводит к подавлению сократительных ответов аорты и артерий брыжейки у новорожденных кроликов [28, 29]. Кроме этого, нами было недавно продемонстрировано, что метаболический ацидоз вызывает уменьшение сократительных реакций подкожных артерий с интактным эндотелием у 12–15-дневных крысят, что связано, в частности, с усилением антиконстрикторной роли оксида азота NO [3]. Вместе с тем на сегодняшний момент остается практически неисследованным, как влияет снижение внеклеточного pH на механизмы регуляции тонуса, присущие гладкомышечным клеткам сосудов в раннем онтогенезе.

Антиконстрикторное влияние TASK-1-каналов, ярко выраженное в период раннего постнатального онтогенеза, в значительной степени уменьшалось при ацидозе. В данном случае такое влияние ацидоза согласуется с данными литературы, поскольку TASK-1-каналы описаны как чувствительные к pH: при ацидозе их активность снижается, в то время как при алкалозе растет [30, 31]. Наши экспериментальные данные впервые позволили продемонстрировать, что в период раннего постнатального онтогенеза в артериях большого круга кровообращения высокая антиконстрикторная активность TASK-1-каналов существенно уменьшается при снижении pH до 6.8, но не исчезает совсем. Отметим, что у животных в возрасте 3–4 месяцев антиконстрикторного влияния TASK-1-каналов не было обнаружено ни при нормальном, ни при кислом pH.

Основываясь на данных литературы мы предполагали, что ацидоз может вызывать активацию K_{ATP} -каналов [9, 10], тем самым усиливая их антиконстрикторное влияние, не выраженное при нормальном pH в подкожной артерии взрослых крыс и крысят в ранний постнатальный период [7]. Более того, у животных в ранний постнатальный период из-за снижения антиконстрикторного влияния TASK-1-каналов в условиях ацидоза мы могли ожидать, что функциональный вклад других калиевых каналов, например K_{ATP} , будет увеличиваться. Несмотря на наши предположения, экспериментальные данные продемонстрировали обратное. Блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид не оказывал влияния на артерии крыс в возрасте 3–4 месяцев и 12–15-дневных крыс как при нормальном pH, так и при ацидозе, то есть влияние сниженного pH на эти артерии не связано с активацией K_{ATP} -каналов.

Таким образом, полученные в данной работе результаты свидетельствуют о том, что закисление внеклеточной среды приводит к подавлению сократительной активности артерий крыс в возрасте 3–4 месяцев и крысят в период раннего постнатального онтогенеза, при этом у последних также снижается антиконстрикторное влияние TASK-1-каналов, а K_{ATP} -каналы не оказывают влияния на регуляцию тонуса сосудов ни при нормальном, ни при кислом pH ни в одной из возрастных групп. Вместе с тем остается неясным, активация и/или подавление каких механизмов регуляции сосудистого

тонуса приводит к снижению сократительных реакций гладкой мышцы в раннем постнатальном периоде. Можно предположить, что в качестве одного из таких механизмов может выступать Rho-киназа, играющая проконстрикторную роль в гладкомышечных клетках, особенно ярко выраженную в раннем онтогенезе [32, 33]. Отметим, что для Rho-киназы ранее было показано снижение ферментативной активности при $\text{pH} < 7.0$ [34]. Вопрос о механизмах, объясняющих снижение сократительных реакций гладкомышечных клеток в условиях снижения pH в раннем постнатальном периоде, остается открытым и станет предметом дальнейших исследований.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность профессору Рудольфу Шуберту за полезные советы и обсуждение дизайна исследования и интерпретации полученных данных. Часть оборудования, использованного в исследовании, предоставлена МГУ в рамках национального проекта “Наука и университеты” (Договор № 161”).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями и были одобрены биоэтической комиссией МГУ имени М.В. Ломоносова (протокол № 97-ж-2 от 11.11.2021 г.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств Российского научного фонда (проект № 21-75-10036). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (А.А.Ш. и Д.К.Г.), сбор данных (А.А.Ш., А.А.Б. и Д.К.Г.), обработка данных (А.А.Ш. и Д.К.Г.), написание и редактирование манускрипта (А.А.Ш. и Д.К.Г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Berend K, de Vries APJ, Gans ROB (2014) Physiological Approach to Assessment of Acid–Base Disturbances. *N Engl J Med* 371: 1434–1445.
https://doi.org/10.1056/NEJMRA1003327/SUPPL_FILE/NEJMRA1003327_DISCLOSURES.PDF
2. Гайнуллина ДК, Швецова АА, Тарасова ОС (2022) Механизмы влияния ацидоза на тонус кровеносных сосудов. *Авиакосмич экологич мед* 56: 38–45. [Gainullina DK, Shvetsova AA, Tarasova OS (2022) Mechanisms of the influence of acidosis on the tone of blood vessels. *Aerospace Environment Med* 56: 38–45. (In Russ)].
<https://doi.org/10.21687/0233-528x-2022-56-5-38-45>
3. Gaynullina DK, Tarasova OS, Shvetsova AA, Borzykh AA, Schubert R (2022) The Effects of Acidosis on eNOS in the Systemic Vasculature: A Focus on Early Postnatal Ontogenesis. *Int J Mol Sci* 23: 5987.
<https://doi.org/10.3390/ijms23115987>
4. Boedtker E, Aalkjaer C (2012) Intracellular pH in the resistance vasculature: regulation and functional implications. *J Vasc Res* 49: 479–496.
<https://doi.org/10.1159/000341235>

5. *Boedtker E* (2018) Acid–base regulation and sensing: Accelerators and brakes in metabolic regulation of cerebrovascular tone. *J Cereb Blood Flow Metab* 38: 588–602.
<https://doi.org/10.1177/0271678X17733868>
6. *Remzö G, Németh J, Varga V, Kovács V, Tóth-Szűki V, Kaila K, Voipio J, Domoki F* (2020) Brain interstitial pH changes in the subacute phase of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn pigs. *PLoS One* 15: e0233851.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233851>
7. *Shvetsova AA, Gaynullina DK, Tarasova OS, Schubert R* (2019) Negative feedback regulation of vasocontraction by potassium channels in 10- to 15-day-old rats: Dominating role of Kv7 channels. *Acta Physiol* 225: e13176.
<https://doi.org/10.1111/apha.13176>
8. *Wang X, Wu J, Li L, Chen F, Wang R, Jiang C* (2003) Hypercapnic acidosis activates KATP channels in vascular smooth muscles. *Circ Res* 92: 1225–1232.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000075601.95738.6D>
9. *Celotto AC, Restini CBA, Capellini VK, Bendhack LM, Evora PRB* (2011) Acidosis induces relaxation mediated by nitric oxide and potassium channels in rat thoracic aorta. *Eur J Pharmacol* 656: 88–93.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.01.053>
10. *Lindauer U, Vogt J, Schuh-Hofer S, Dreier JP, Dirnagl U* (2003) Cerebrovascular Vasodilation to Extraluminal Acidosis Occurs via Combined Activation of ATP-Sensitive and Ca²⁺-Activated Potassium Channels. *J Cereb Blood Flow Metab* 23(10): 1227–1238.
<https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000088764.02615.B7>
11. *Rohra DK, Sharif HM, Zubairi HS, Sarfraz K, Ghayur MN, Gilani AH* (2005) Acidosis-induced relaxation of human internal mammary artery is due to activation of ATP-sensitive potassium channels. *Eur J Pharmacol* 514: 175–181.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.02.041>
12. *Phillis JW, Song D, O'Regan MH* (2000) Mechanisms involved in coronary artery dilatation during respiratory acidosis in the isolated perfused rat heart. *Basic Res Cardiol* 95: 93–97.
<https://doi.org/10.1007/s003950050169>
13. *Gurney A, Manoury B* (2009) Two-pore potassium channels in the cardiovascular system. *Eur Biophys J* 38: 305–318.
<https://doi.org/10.1007/s00249-008-0326-8>
14. *Goldstein SAN, Bockenhauer D, O'Kelly I, Zilberberg N* (2001) Potassium leak channels and the KCNK family of two-p-domain subunits. *Nat Rev Neurosci* 23(2): 175–184.
<https://doi.org/10.1038/35058574>
15. *Olschewski A, Li Y, Tang B, Hanze J, Eul B, Bohle RM, Wilhelm J, Morty RE, Brau ME, Weir EK, Kwapiszewska G, Klepetko W, Seeger W, Olschewski H* (2006) Impact of TASK-1 in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Circ Res* 98: 1072–1080.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000219677.12988.e9>
16. *Antigny F, Hautefort A, Meloche J, Belacel-Ouari M, Manoury B, Rucker-Martin C, Péchoux C, Potus F, Nadeau V, Tremblay E, Ruffenach G, Bourgeois A, Dorfmueller P, Breuils-Bonnet S, Fadel E, Ranchoux B, Jourdon P, Girerd B, Montani D, Provencher S, Bonnet S, Simonneau G, Humbert M, Perros F* (2016) Potassium channel subfamily K member 3 (KCNK3) contributes to the development of pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 133: 1371–1385.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.020951>
17. *Gardener MJ, Johnson IT, Burnham MP, Edwards G, Heagerty AM, Weston AH* (2004) Functional evidence of a role for two-pore domain potassium channels in rat mesenteric and pulmonary arteries. *Br J Pharmacol* 142: 192–202.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705691>
18. *Shvetsova AA, Gaynullina DK, Schmidt N, Bugert P, Lukoshkova E V, Tarasova OS, Schubert R* (2020) TASK-1 channel blockade by AVE1231 increases vasocontractile responses and BP in 1- to 2-week-old but not adult rats. *Br J Pharmacol* 177: 5148–5162.
<https://doi.org/10.1111/bph.15249>
19. *Stulcova B* (1977) Postnatal development of cardiac output distribution measured by radioactive microspheres in rats. *Neonatology* 32: 119–124.
20. *Mulvany MJ, Halpern W* (1977) Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ Res* 41: 19–26.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.41.1.19>
21. *Yartsev VN, Karachentseva OV, Dvoretzky DP* (2002) Effect of pH changes on reactivity of rat mesenteric artery segments at different magnitude of stretch. *Acta Physiol Scand* 174: 1–7.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-201x.2002.00923.x>

22. Mohanty I, Suklabaidya S, Parija SC (2016) Acidosis reduces the function and expression of $\alpha 1D$ -adrenoceptor in superior mesenteric artery of capra hircus. *Int J Pharmacol* 48: 399–406.
<https://doi.org/10.4103/0253-7613.186199>
23. Aoyama Y, Ueda K, Setogawa A, Kawai Y (1999) Effects of pH on contraction and Ca^{2+} mobilization in vascular smooth muscles of the rabbit basilar artery. *Jpn J Physiol* 49: 55–62.
24. Akanji O, Weinzierl N, Schubert R, Schilling L (2019) Acid sensing ion channels in rat cerebral arteries: Probing the expression pattern and vasomotor activity. *Life Sci* 227: 193–200.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.054>
25. Aleksandrowicz M, Kozniowska E (2020) Compromised regulation of the rat brain parenchymal arterioles in vasopressin-associated acute hyponatremia. *Microcirculation* 27: 1–7.
<https://doi.org/10.1111/micc.12644>
26. Hessellund A, Aalkjaer C, Bek T (2006) Effect of acidosis on isolated porcine retinal vessels. *Curr Eye Res* 31: 427–434.
<https://doi.org/10.1080/02713680600681236>
27. Ives SJ, Andibacka RHI, Noyes RD, Morgan RG, Gifford JR, Park SY, Symons JD, Richardson RS (2013) $\alpha 1$ -Adrenergic responsiveness in human skeletal muscle feed arteries: The impact of reducing extracellular pH. *Exp Physiol* 98: 256–267.
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.066613>
28. Nakanishi T, Gu H, Momma K (1997) Developmental changes in the effect of acidosis on contraction, intracellular pH, and calcium in the rabbit mesenteric small artery. *Pediatr Res* 42: 750–757.
<https://doi.org/10.1203/00006450-199712000-00006>
29. Nakanishi T, Gu H, Momma K (1997) Effect of acidosis on contraction, intracellular pH, and calcium in the newborn and adult rabbit aorta. *Heart Vessels* 12: 207–215.
<https://doi.org/10.1007/BF02766785>
30. Lotshaw DP (2007) Biophysical, pharmacological, and functional characteristics of cloned and native mammalian two-pore domain K^+ channels. *Cell Biochem Biophys* 47(2): 209–256.
<https://doi.org/10.1007/s12013-007-0007-8>
31. Ma L, Zhang X, Zhou M, Chen H (2012) Acid-sensitive TWIK and TASK Two-pore Domain Potassium Channels Change Ion Selectivity and Become Permeable to Sodium in Extracellular Acidification. *J Biol Chem* 287(44): 37145–37153.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.398164>
32. Mochalov SV, Tarasova NV, Kudryashova TV, Gaynullina DK, Kalenchuk VU, Borovik AS, Vorotnikov AV, Tarasova OS, Schubert R (2018) Higher Ca^{2+} -sensitivity of arterial contraction in 1-week-old rats is due to a greater Rho-kinase activity. *Acta Physiol* 223: 1–15.
<https://doi.org/10.1111/apha.13044>
33. Akopov SE, Zhang L, Pearce WJ (1998) Regulation of Ca^{2+} sensitization by PKC and rho proteins in ovine cerebral arteries: Effects of artery size and age. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol* 275: 930–939.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1998.275.3.h930>
34. Boedtker E, Praetorius J, Matchkov VV, Stankevicius E, Mogensen S, Füchtbauer AC, Simonson U, Füchtbauer EM, Aalkjaer C (2011) Disruption of Na^+ , HCO_3^- cotransporter NBCn1 (slc4a7) Inhibits no-mediated vasorelaxation, smooth muscle Ca^{2+} Sensitivity, and hypertension development in mice. *Circulation* 124: 1819–1829.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.015974>

**Influence of extracellular acidosis on the functional contribution
of K_{ATP} and TASK-1 potassium channels to the regulation of vascular tone
in early postnatal ontogenesis**

A. A. Shvetsova^a, A. A. Borzykh^{a, b}, and D. K. Gaynullina^{a, *}

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^b*Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^{*}*e-mail: Dina.Gaynullina@gmail.com*

The activity of many proteins and, as a result, of the mechanisms of vascular tone regulation depends on pH. A decrease of pH (uncompensated acidosis), usually causes relaxation of blood vessels, which has been studied in sufficient detail for an adult, matured organism.

However, the effect of acidosis on the mechanisms of vascular tone regulation in the early postnatal period remains almost completely unexplored. The aim of this work was to study the effect of extracellular metabolic acidosis on the functional contribution of K_{ATP} and TASK-1 potassium channels to the regulation of vascular tone in early postnatal period. We modeled extracellular metabolic acidosis (pH 6.8, equimolar replacement of $NaHCO_3$ with NaCl in solution) and studied isometric contractile responses of the saphenous artery in rats aged 3–4 months and rat pups aged 12–15 days. Arterial contraction to the α_1 -adrenergic agonist methoxamine at pH 6.8 was reduced compared to normal pH 7.4 in both 3–4-month-old and 12–15-day-old rats. The K_{ATP} channel blocker glibenclamide did not change the arterial responses to methoxamine, neither at pH 7.4 nor at pH 6.8 in any of the age groups. The TASK-1 channel blocker AVE1231 did not alter arterial contractile responses at any pH in 3–4-month-old rats. However, in 12–15-day-old rat pups, the increase in contractile responses to methoxamine under the influence of AVE1231 was less at pH 6.8 than at pH 7.4. Thus, the results of this work demonstrate that acidosis reduces the contractile activity of the arteries of 3–4-month-old animals and animals during early postnatal ontogenesis, while in the latter, the anticontractile role of TASK-1 channels decreases, and K_{ATP} channels do not affect the regulation of vascular tone, either under normal, or at acidic pH in any of the age groups.

Keywords: acidosis, artery, potassium channels, ATP-sensitive potassium channels, TASK-1 channels, smooth muscle, early postnatal ontogenesis