

УДК 591.112.1

ХЛОРНЫЕ МЕМБРАННЫЕ КАНАЛЫ И ТРАНСПОРТЕРЫ – РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕЙСМЕКЕРНОГО И РАБОЧЕГО МИОКАРДА

© 2024 г. Я. А. Воронина^{а, б, *}, А. М. Кархов^{а, б, **}, В. С. Кузьмин^{а, б, ***}

^аКафедра физиологии человека и животных, биологический факультет,

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия

^бНаучно-исследовательский институт экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова, Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова Минздрава России, Москва, 121552 Россия

*E-mail: voronina.yana.2014@post.bio.msu.ru

**E-mail: akarchoff@gmail.com

***E-mail: ku290381@mail.ru

Поступила в редакцию 28.03.2024 г.

После доработки 29.07.2024 г.

Принята к публикации 09.08.2024 г.

Хлорид-анионы оказывают значительное влияние на электрофизиологические свойства возбудимых тканей, в том числе и миокардиальной ткани. Анионы хлора и трансмембранные хлорные токи (I_{Cl}) определяют конфигурацию потенциалов действия (ПД) в различных участках здорового сердца, а нарушение трансмембранного переноса хлора вызывает изменение нормальной электрической активности, что приводит к сердечным патологиям и аритмиям. На данный момент для нескольких типов макромолекул подтверждена хлорная проводимость и экспрессия в сердце, а также имеются сведения, указывающие на функциональную роль этих каналов в миокарде. К таким каналам относятся CFTR, ClC-2, CaCC (TMEM16) и VRAC (LRRC8x). Кроме того, значительный вклад в регуляцию внутриклеточной концентрации анионов хлора ($[Cl^-]_i$) и, соответственно, равновесного потенциала для анионов хлора (E_{Cl}) вносят хлорные котранспортеры (KCC, NKCC) и хлор-бикарбонатные обменники. В данном обзоре рассмотрены механизмы, посредством которых хлорный трансмембранный транспорт влияет на биоэлектрическую активность кардиомиоцитов. Кроме того, в обзоре сделаны предположения о потенциальных функциях хлора и хлорных токов в специализированных участках сердца.

Ключевые слова: синоатриальный узел, атриовентрикулярный узел, хлорные каналы, катион-хлорные котранспортеры, хлор-бикарбонатный обменник.

DOI: 10.31857/S0301179824040041 **EDN:** ANBULD

Сокращения: $[Ca^{2+}]_i$ – внутриклеточная концентрация кальция; $[Cl^-]_i$ – внутриклеточная концентрация анионов хлора; $[Cl^-]_o$ – внеклеточная концентрация анионов хлора; β -АР – β -адренорецепторы; АВУ – атриовентрикулярный узел; ГМК – гладкомышечные клетки; ДПД – длительность потенциала действия; И-Р – ишемия-реперфузия; МДД – медленная диастолическая деполяризация; МДП – максимальный диастолический потенциал; МП – мембранный потенциал; ПД – потенциал действия; ПП – потенциал покоя; РПД – ранние постдеполяризации; САУ – синоатриальный узел; CaCC – кальций-зависимые хлорные каналы; CFTR – трансмембранный регулятор муковисцидоза (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator); ClC – потенциал-управляемые хлорные каналы (chloride channels); E_{Cl} – равновесный потенциал для анионов хлора; GPCR – G-белок сопряженными рецепторами; I_{Cl} – трансмембранный хлорный ток; $I_{Cl, Ca}$ – кальций-чувствительный хлорный ионный ток; $I_{Cl, ir}$ – активируемый гиперполяризацией хлорный ток с входящим выпрямлением; $I_{Cl, PKA}$ – PKA-зависимый хлорного тока; KCC – котранспортер калия и хлора; LRRC – белки, содержащие повторы, обогащенные лейцином (leucine rich repeats containing); NKCC – котранспортер калия, натрия и хлора; PKA – протеинкиназа А; VRAC – анионные каналы, регулируемые объемом (volume-regulated anion channels).

Хлор является неорганическим анионом в биологических системах, который определяет электрофизиологические свойства возбудимых клеток и тканей, в том числе миокарда. Анионы хлора и трансмембранные хлорные токи играют существенную роль в формировании конфигурации потенциалов действия (ПД) в различных участках здорового сердца, а нарушение гомеостаза и трансмембранного переноса хлора вызывает изменение нормальной электрической активности, что приводит к сердечным патологиям и нарушениям ритма сердца. С другой стороны, заболевания сердечно-сосудистой системы, сопровождающиеся ремоделированием миокарда, могут приводить к изменению экспрессии и функционирования хлорных ионных каналов кардиомиоцитов. Например, при гипертрофии миокарда наблюдается увеличение плотности некоторых хлорных токов ($I_{Cl,ir}$) в желудочковых кардиомиоцитах [65]. Кроме того, увеличение плотности механочувствительных хлорных токов наблюдается и при сердечной недостаточности. Дисрегуляция хлорной трансмембранной проводимости способствует индукции аритмий в рабочем миокарде и в проводящей системе сердца [83], например, за счет нарушения нормального распространения волны возбуждения.

В последние годы идентифицирован целый ряд мембранных белков, демонстрирующих хлорную проводимость. Также идентифицирован целый ряд молекул-кандидатов, которые потенциально могут осуществлять трансмембранный перенос анионов хлора. В данном обзоре приведены известные сведения о влиянии отдельных хлорных каналов и транспортеров на электрическую активность в различных участках сердца млекопитающих и человека. В обзоре предложены механизмы регуляции $[Cl^-]_i$, E_{Cl} и I_{Cl} в пейсмекере сердца и сократительном миокарде предсердий и желудочков.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ХЛОРНЫХ АНИОННЫХ ТОКОВ КАРДИОМИОЦИТОВ

Известно, что $[Cl^-]$ в плазме крови млекопитающих и человека составляет 105–107 ммоль/л, в то время как интерстициальная (внеклеточная, $[Cl^-]_o$) концентрация Cl^- выше: в сердечной ткани $[Cl^-]_o$ составляет около 115–125 ммоль/л, а согласно некоторым данным, может достигать 145 ммоль/л [38]. Соответственно, E_{Cl} в кардиомиоцитах лежит в диапазоне от –65 до –40 мВ. Таким образом, E_{Cl} значительно позитивнее потенциала покоя “рабочих” кардиомиоцитов (–78...–82 мВ) предсердий и желудочков.

Очевидно, что при значениях МП негативнее E_{Cl} Cl^- через ионные (хлорные) каналы будут перемещаться из цитоплазмы кардиомиоцитов во внеклеточную среду. Физически перемещение ионов

Cl^- через мембрану будет *выходящим*, однако так как трансмембранный ионный ток определяется по направлению перемещения положительных зарядов, то хлорный ток (I_{Cl}) будет обозначен как *входящий*, и, соответственно, *деполярирующий*. При значениях МП позитивнее E_{Cl} Cl^- через каналы будут перемещаться из внеклеточной среды в цитоплазму, а I_{Cl} становится *выходящим* (реполярирующим).

Поскольку E_{Cl} позитивнее ПП, характерного для рабочих кардиомиоцитов предсердий и желудочков, I_{Cl} оказывает двойное действие на электрическую активность. Входящая компонента I_{Cl} способствует начальной фазе деполяризации ПД (фаза 0) и замедляет окончательную реполяризацию ПД (фаза 3). Выходящая составляющая I_{Cl} подавляет деполяризацию, способствует снижению скорости фронта ПД, снижению амплитуды овершута, способствует сдвигу потенциала фазы плато к более негативным значениям, а также ускорению реполяризации ПД (начало фазы 3, рис. 1, а–б) и уменьшению длительности ПД (ДПД) [16, 20].

Исходя из предположения, что $[Cl^-]_i$ лежит в диапазоне от 5–15 ммоль/л, E_{Cl} может быть равным или негативным относительно максимального (т. е. наибольшего по модулю) диастолического потенциала (МДП), наблюдаемого в пейсмекерных кардиомиоцитах ритмоводителя сердца – синоatriального узла (САУ). Известно, что в кардиомиоцитах центральной части САУ человека и других млекопитающих МДП лежит в диапазоне –68 – –55 мВ. Таким образом, в пейсмекерных кардиомиоцитах I_{Cl} должен являться *выходящим* и реполярирующим при всех значениях мембранного потенциала. Теоретически I_{Cl} пейсмекерных кардиомиоцитов должен способствовать замедлению медленной диастолической деполяризации (МДД), замедлению деполяризации и ускорять реполяризацию ПД. Следует учесть, что $[Cl^-]_i$ в “рабочих” кардиомиоцитах и кардиомиоцитах САУ может существенно различаться. В кардиомиоцитах САУ $[Cl^-]_i$ может быть повышена, например в результате усиленной экспрессии NKCC1. В том случае, если $[Cl^-]_i$ в САУ заметно больше 15 ммоль/л, то E_{Cl} оказывается позитивнее МДП и хлорные токи могут способствовать увеличению скорости МДД (см. рис. 1, в). В настоящее время $[Cl^-]_i$ в кардиомиоцитах САУ не установлена.

Для кардиомиоцитов периферии САУ, демонстрирующих латентные пейсмекерные свойства, характерен более негативный МДП (–75...–65 мВ). В этих клетках, даже если $[Cl^-]_i$ составляет 5–15 ммоль/л, I_{Cl} будет способствовать МДД и предотвращать латентные кардиомиоциты периферии САУ от гиперполяризации со стороны рабочих кардиомиоцитов предсердий [75]. Этот эффект будет облегчать передачу возбуждения от центральной части САУ к рабочему миокарду.

Роль CFTR ($I_{Cl,PKA}$) в кардиомиоцитах

Экспрессия кардиоспецифичной изоформы CFTR показана для кардиомиоцитов предсердий и желудочков у многих видов позвоночных животных, в том числе человека [19, 29, 32, 39, 51, 71, 72, 78].

CFTR может взаимодействовать со многими мембранными белками, которые прямо или косвенно влияют на функцию других ионных каналов и транспортеров, а также с другими хлорными каналами, например, CaCC или VRAC [12, 49]. Предполагается, что каналы CFTR могут динамически формировать в мембране крупные макромолекулярные комплексы, которые содержат сигнальные молекулы, киназы и транспортные белки [79]. В желудочковых кардиомиоцитах крысы показана колокализация CFTR с паннексинами (Panx1), а также с обменниками Na^+/H^+ и Na^+/Ca^{2+} [41].

Установлено, что активация CFTR и увеличение тока $I_{Cl,PKA}$ приводит к гиперполяризации и уменьшению ДПД кардиомиоцитов [38], а снижение активности CFTR – к замедлению реполяризации ПД кардиомиоцитов рабочего миокарда [50] (см. рис. 2, а). С одной стороны, CFTR предотвращает возникновение ранних постдеполяризаций (РПД) в рабочем миокарде во время фазы плато или фазы реполяризации [79]. Кроме того, активация CFTR способствует снижению спонтанной электрической активности миокарда при стимуляции β -АР [21, 64]. С другой стороны, уменьшение ДПД, обусловленное I_{Cl} , может способствовать развитию аритмий по типу re-entry в результате уменьшения

длительности периода рефрактерности [14]. Таким образом, эффекты активации CFTR являются двойными относительно аритмогенеза.

В норме экспрессия CFTR увеличивается от эндокарда к эпикарду и, соответственно, $I_{Cl,PKA}$ вносит вклад в трансмуральный разброс (или градиент) электрофизиологических свойств желудочкового миокарда. Этот разброс усиливается при адренергической стимуляции. У кроликов в модели сердечной недостаточности профиль распределения CFTR меняется в сторону уменьшения эпикардальной экспрессии канала, что опять же приводит к повышению вероятности возникновения сердечных аритмий.

Известно, что в САУ высок базальный уровень активности PKA. В связи с этим CFTR/ $I_{Cl,PKA}$ должны оказывать существенное влияние на работу пейсмекера, которое может выражаться как в облегчении, так и в подавлении автоматии в зависимости от уровня $[Cl^-]_i$ (см. рис. 2, б). Эффекты CFTR/ $I_{Cl,PKA}$ в пейсмекерном миокарде практически не изучены.

Каналы CFTR и ток $I_{Cl,PKA}$, видимо, обуславливают множество опосредованных и непрямых эффектов в сердце. Селективная блокада CFTR вызывает снижение скорости сокращения желудочковых кардиомиоцитов, а также активацию потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа, увеличение $[Ca^{2+}]_i$ и ингибирование активности PKA в кардиомиоцитах [66]. У мышей, нокаутных по *Cfir*, наблюдается увеличение давления, развиваемого левым желудочком, и уменьшение

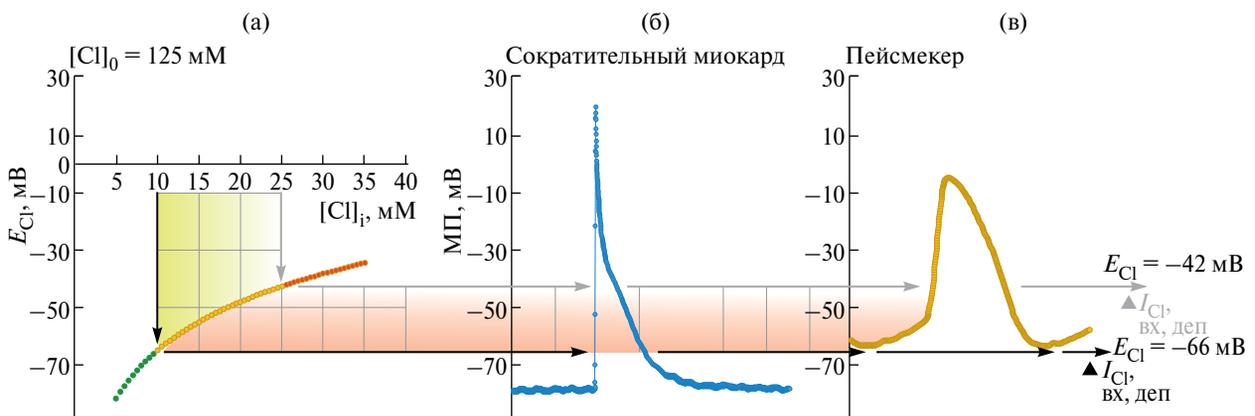


Рис. 1. Диапазон значений равновесного потенциала по хлору (E_{Cl^-}) в кардиомиоцитах. Внеклеточная концентрация хлора ($[Cl^-]_o$) – 125 мМ. а – зависимость E_{Cl^-} от $[Cl^-]_i$. Желтая часть пунктирной кривой обозначает физиологический диапазон возможной $[Cl^-]_i$ и E_{Cl^-} в кардиомиоцитах различных отделов сердца, красная и зеленая части пунктирной кривой – возможные значения $[Cl^-]_i$ и E_{Cl^-} в кардиомиоцитах при гипотоническом и гипертоническом стрессе; б – потенциал действия в кардиомиоцитах сократительного (рабочего) миокарда. Область, обозначенная красным цветом – диапазон изменения E_{Cl^-} в зависимости от $[Cl^-]_i$; в – потенциал действия в кардиомиоцитах синоатриального узла, обладающих пейсмекерной активностью. Черный и серый треугольники – значения МП, вплоть до которого имеет место входящая деполяризирующая компонента I_{Cl} (при данном значении $[Cl^-]_i$). I_{Cl} , вх, деп – деполяризирующий входящий хлорный ток, МП – мембранный потенциал.

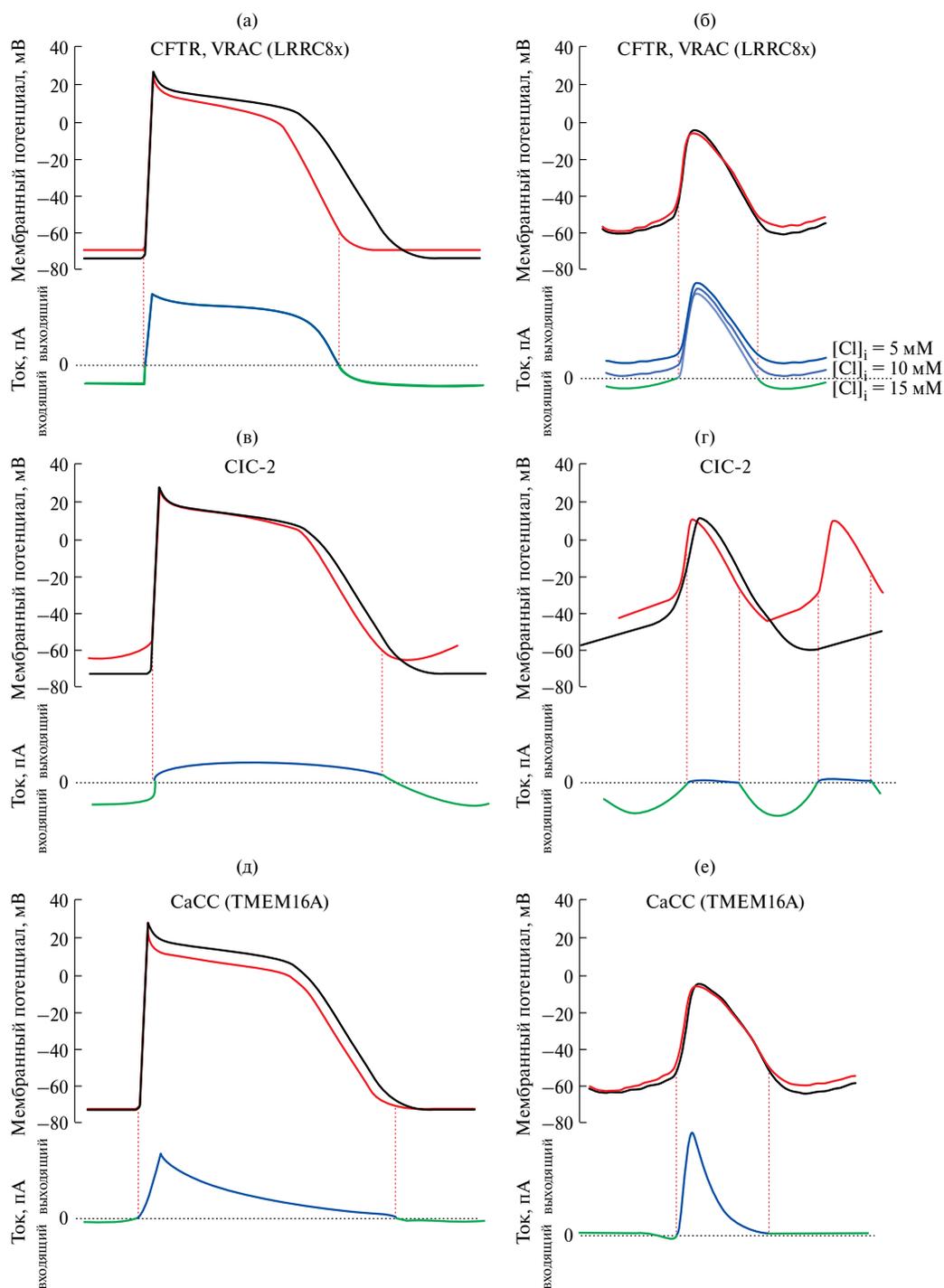


Рис. 2. Верхние панели – изменение конфигурации потенциала действия кардиомиоцитов рабочего (слева) и пейсмерного (справа) миокарда при активации хлорных каналов. Черный цвет – потенциал действия в контроле, красный цвет – потенциал действия при активации разных типов хлорных каналов – CFTR (а–б), LRRC8x (а–б), CIC-2 (в–г), TMEM16A (д–е). Нижние панели – изменение хлорного тока через разные хлорные каналы в зависимости от мембранного потенциала в ходе потенциала действия кардиомиоцитов рабочего (слева) и пейсмерного (справа) миокарда – CFTR (а–б), LRRC8x (а–б), CIC-2 (в–г), TMEM16A (д–е). Зеленый цвет – входящий ток (ионы хлора выходят из клетки), синий цвет – выходящий ток (ионы хлора входят в клетку). На панели б входящая и выходящая компонента тока показаны для трех значений $[Cl^-]_i$, поскольку эта величина может различаться для центральной и периферической частей гетерогенной ткани САУ, что обуславливает различные электрофизиологические эффекты. Кривые построены с использованием уравнения Гольдмана–Ходжкина–Каца (ГХК) для трансмембранного ионного тока и учета вероятности пребывания канала в открытом состоянии.

сократительной активности в ответ на стимуляцию β -АР [45], гистаминовых и пуриновых рецепторов [19], а также уменьшение фракции выброса [45]. Показано, что активатор CFTR лубипростон приводит к снижению частоты и силы сокращения кардиомиоцитов [1].

Известно, что ток через канал CFTR усиливается во время ишемии и проявляет кардиопротекторные свойства [72]. При гипоксии происходит увеличение экспрессии CFTR в плазматической мембране желудочковых кардиомиоцитов новорожденных крыс [72]. В свою очередь, размер инфаркта при ишемии-реперфузии (И-Р) у мышей, нокаутных по гену *Cfir*, значимо больше по сравнению с мышами дикого типа. Кроме того, активатор CFTR гинестеин приводит к уменьшению площади зоны повреждения при И-Р у мышей *in vivo*. CFTR важен при ишемическом пре- и посткондиционировании миокарда для защиты от некроза [9] и апоптоза [79].

Роль $Cl_{Cl,ir}$ ($I_{Cl,ir}$) в кардиомиоцитах

В 1961 г. в экспериментах с волокнами Пуркинье собаки и овцы было установлено, что замена внеклеточного Cl^- на органические анионы, не способные проникать через мембрану, приводит к временному увеличению, а затем к снижению частоты спонтанных ПД до 40–90% от контрольного значения [40]. В 1979 г. с помощью метода фиксации потенциала был обнаружен потенциал-зависимый хлорный ток входящего выпрямления в клетках САУ кролика ($I_{Cl,ir}$) [67]. Входящий ток регистрировали только при значениях МП негативнее -60 мВ. Было показано, что входящая компонента обнаруженного тока способствовала МДД. Замена внеклеточного Cl^- на ацетат приводила к снижению частоты спонтанных ПД в САУ и увеличению их амплитуды [67]. Позднее ионный ток с аналогичными характеристиками был обнаружен в другом типе ткани, демонстрирующем автоматию и пейсмекерные ПД – в миокардиальной стенке венозного синуса амфибий [8]. Поскольку в то время молекулярный субстрат для этого тока еще не был идентифицирован, роль хлора как переносчика анионного активируемого гиперполяризацией тока подвергалась сомнению [26]. За последние 20 лет накоплено достаточно доказательств, которые позволяют атрибутировать трансмембранный ионный ток, способствующий МДД и обладающий аномальным выпрямлением ($I_{Cl,ir}$), с хлорными каналами $Cl_{Cl,ir}$ [6, 7, 48, 49, 68]. В настоящее время показано, что каналы $Cl_{Cl,ir}$ экспрессируются в кардиомиоцитах предсердий и желудочков сердца человека [31], морских свинок [7, 18], мышей [18], крыс [7, 48] и других млекопитающих. Кроме того, для $Cl_{Cl,ir}$ показана экспрессия в кардиомиоцитах САУ морских свинок [37].

Установлено, что ионный ток, опосредуемый именно каналами $Cl_{Cl,ir}$, играет важную роль в поддержании пейсмекерной активности САУ наряду с “классическими” пейсмекерными токами (I_f , I_{NCX}) [37]. При значениях МП более отрицательных, чем E_{Cl} , открытие каналов $Cl_{Cl,ir}$ приводит к входящему току, ускорению МДД и деполяризации. Однако в результате аномального выпрямления выходящая реполяризующая компонента $I_{Cl,ir}$ оказывается мала и практически не влияет на пейсмекерные ПД. Таким образом, $I_{Cl,ir}$ способствует только деполяризации (см. рис. 2, в–г). В том случае когда в пейсмекерных кардиомиоцитах происходит увеличение $[Cl^-]_i$, E_{Cl} для этих клеток оказывается существенно позитивнее МДП и может быть позитивнее порога ПД (-45 мВ) [37]. Поэтому входящая компонента $I_{Cl,ir}$ может увеличивать не только скорость МДД, приводя к более быстрому достижению порогового потенциала, но и скорость фронта ПД.

Каналы $Cl_{Cl,ir}$ играют важную роль в регуляции пейсмекерной активности при патологических состояниях [1, 7, 18, 37, 48]. Показано, что “гипотонический стресс” и гиперволюмия приводят к увеличению скорости МДД, уменьшению МДП, амплитуды и длительности ПД в изолированных клетках САУ. Эти эффекты в основном исчезают при иммунопреципитации каналов $Cl_{Cl,ir}$ специфическими антителами [37]. Поскольку предполагается, что $Cl_{Cl,ir}$ обладают механочувствительностью и их проводимость увеличивается при растяжении клетки, то вышеуказанные эффекты могут быть обусловлены током $I_{Cl,ir}$.

Важно, что иммунопреципитация $Cl_{Cl,ir}$ не оказывала влияния на вызванное гиперволюмией уменьшение ДПД, что является дополнительным свидетельством наличия аномального выпрямления у ионного тока $I_{Cl,ir}$ [37].

Считается, что способность $I_{Cl,ir}/Cl_{Cl,ir}$ вызывать деполяризацию при значениях МП негативнее E_{Cl} повышает вероятность возникновения аритмий в миокарде предсердий и желудочков. Предполагается, что хлорный ток, опосредованный $Cl_{Cl,ir}$, является составляющей частью деполяризующего тока, возникающего при задержанных постдеполяризациях (I_{DAD}). В миокарде лёгочных вен, который является основным аритмогенным субстратом в суправентрикулярной области сердца, преимущественным и сильно выраженным током, активируемым гиперполяризацией, является не I_f , а $I_{Cl,ir}/Cl_{Cl,ir}$. Показано также, что активация тока I_f происходит при более позитивных значениях МП, чем активация $I_{Cl,ir}$ [70]. В связи с этим блокаторы $Cl_{Cl,ir}$ могут быть потенциальными антиаритмиками.

У мышей, нокаутных по *Clen2*, повышается вероятность возникновения блоков проведения в АВУ и наблюдается уменьшение хронотропного

ответа на острую физическую нагрузку по сравнению с мышами дикого типа [45]. Возможно, что стимуляция каналов $ClC-2$ при активации сигнального каскада β -АР/АЦ/РКА является одним из механизмов увеличения ЧСС и контроля длительности АВ-задержки [15, 27, 31].

*Роль VRAC/LRRC8x
($I_{Cl, vol}$, $I_{Cl, swell}$) в кардиомиоцитах*

Имеющиеся данные об эффектах тока $I_{Cl, vol}$, ($I_{Cl, swell}$), формируемого каналами LRRC8x, весьма противоречивы и не полны. С одной стороны, предполагается, что в нормальных условиях ток $I_{Cl, vol}$ ($I_{Cl, swell}$) невелик или отсутствует вовсе, однако сильно возрастает при растяжении клеточной мембраны или при помещении клеток в гипоосмотический раствор [20]. Однако в некоторых работах утверждается что $I_{Cl, vol}$, ($I_{Cl, swell}$) критически важен для стабилизации ПП [66]. Поскольку $I_{Cl, vol}$, ($I_{Cl, swell}$) был обнаружен в пейсмекерных клетках, то предполагается, что он играет “значительную” роль в реализации пейсмекерной функции САУ и АВУ.

Активация тока $I_{Cl, vol}$ ($I_{Cl, swell}$) приводит к деполяризации и уменьшению ДПД в рабочем миокарде [16, 17, 34, 74] (см. рис. 2, а). Как и в случае с CFTR, эффекты $I_{Cl, vol}$, ($I_{Cl, swell}$) в САУ будут сильно зависеть от $[Cl^-]$. В рабочем миокарде, опять же по аналогии с CFTR, укорочение ПД и, соответственно, рефрактерности при активации $I_{Cl, vol}$, ($I_{Cl, swell}$) может способствовать возникновению контуров циркуляции возбуждения (re-entry), а также индукции фибрилляции предсердий или желудочков. Имеются данные, что $I_{Cl, vol}$ предотвращает увеличение длительности фазы плато ПД, обусловленное усилением кальциевого тока $I_{Ca,L}$ при стимуляции β -АР [22]. Имеются сведения, что $I_{Cl, vol}$ ($I_{Cl, swell}$) в кардиомиоцитах легочных вен способствует деполяризации мембраны, инактивации потенциал-зависимых натриевых каналов, нарушению проводимости и эктопической активности внутри лёгочных вен. Кроме того, $I_{Cl, vol}$ ($I_{Cl, swell}$) может как уменьшать, так и увеличивать частоту возникновения ранних постдеполяризаций в специфических участках миокарда [24].

Следует упомянуть, что ранее ток $I_{Cl, vol}$, ($I_{Cl, swell}$) атрибутировали с Cl^-/H^+ -обменниками $ClC-3$. Изменение экспрессии этого белка действительно влияет на электрические и сократительные свойства миокарда. Экспериментальное усиление экспрессии гена *Clcn3* у мышей приводит к уменьшению длительности QT-интервала, а также рефрактерности в желудочках [83]. Делеция гена *Clcn3* приводит к уменьшению фракции выброса, развитию гипертрофии миокарда и сердечной недостаточности у взрослых мышей [20, 80]. Стимуляция β -АР приводит к снижению уровня экспрессии

$ClC-3$ в гипертрофированных кардиомиоцитах [55].

Роль TMEM16A ($I_{Cl, Ca}$, I_{to2}) в кардиомиоцитах

Кальций-зависимый хлорный ток ($I_{Cl, Ca}$) впервые был выявлен в сердце в начале 1990-х гг. [85]. Известно, что в рабочих кардиомиоцитах и волокнах Пуркинье сердца ранняя (начальная) фаза реполяризации ПД формируется кратковременным (“транзиторным”) выходящим реполяризующим током, обозначаемым I_{to} (to – transient outward). Ток I_{to} разделяется на две компоненты – I_{to1} , I_{to2} . Компонента I_{to1} , является калиевым током, формируемым калиевыми потенциал-чувствительными каналами Kv1.4, Kv4.2, Kv4.3. Компонента I_{to2} является Ca^{2+} -зависимым, нечувствительным к 4-аминопиридину (4-AP) хлорным током [84]. В настоящее время считается, что I_{to2} формируется Ca^{2+} -чувствительными (или Ca^{2+} -активируемыми) хлорными каналами CaCC/TMEM16A(B) [46, 86].

Одной из отличительных особенностей нативного I_{to2} является колоколообразный вид вольт-амперной характеристики: выходящая компонента тока I_{to2} увеличивается по амплитуде, имея вид классической Гольдмановской кривой, в диапазоне от E_{Cl} до приблизительно +3...+35 мВ. При значениях мембранного потенциала позитивнее +30 мВ, ток I_{to2} перестает расти и, наоборот, снижается (см. рис. 3, а) [85]. Степень искажения Гольдмановской характеристики для I_{to2} является видоспецифичной [81]. Однако вышесказанная степень искажения увеличивается при повышении частоты стимуляции кардиомиоцитов и, вероятно, определяется перегрузкой при мембранной области цитоплазмы кальцием. Для нативного I_{to2} характерна также инактивация со временем, которая приводит к снижению амплитуды как входящей, так и выходящей компоненты тока от пиковой величины до 10–30% за 30–50 мс (см. рис. 3, б). Следует отметить, что для канала TMEM16 такой тип инактивации не характерен.

В мембране TMEM16A(B) локализован и взаимодействует с множеством белков различного типа: потенциал-управляемыми кальциевыми каналами L- и T-типа (Cav1.2, Cav1.3), бестрофинами (BEST1-3), каналами CFTR, хлор-бикарбонатными обменниками, белками семейства tweety (TTUN1-3), регуляторными субъединицами хлорных каналов CLCA2 [36] (см. рис. 3, в). Вероятно, нативный ионный ток I_{to2} формируется сложным канальным комплексом, который включает, помимо порообразующей (TMEM16A), ряд дополнительных субъединиц, что и приводит к значительной модификации вольт-амперной характеристики.

Как известно, $[Ca^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах в ходе “кальциевой волны” изменяется

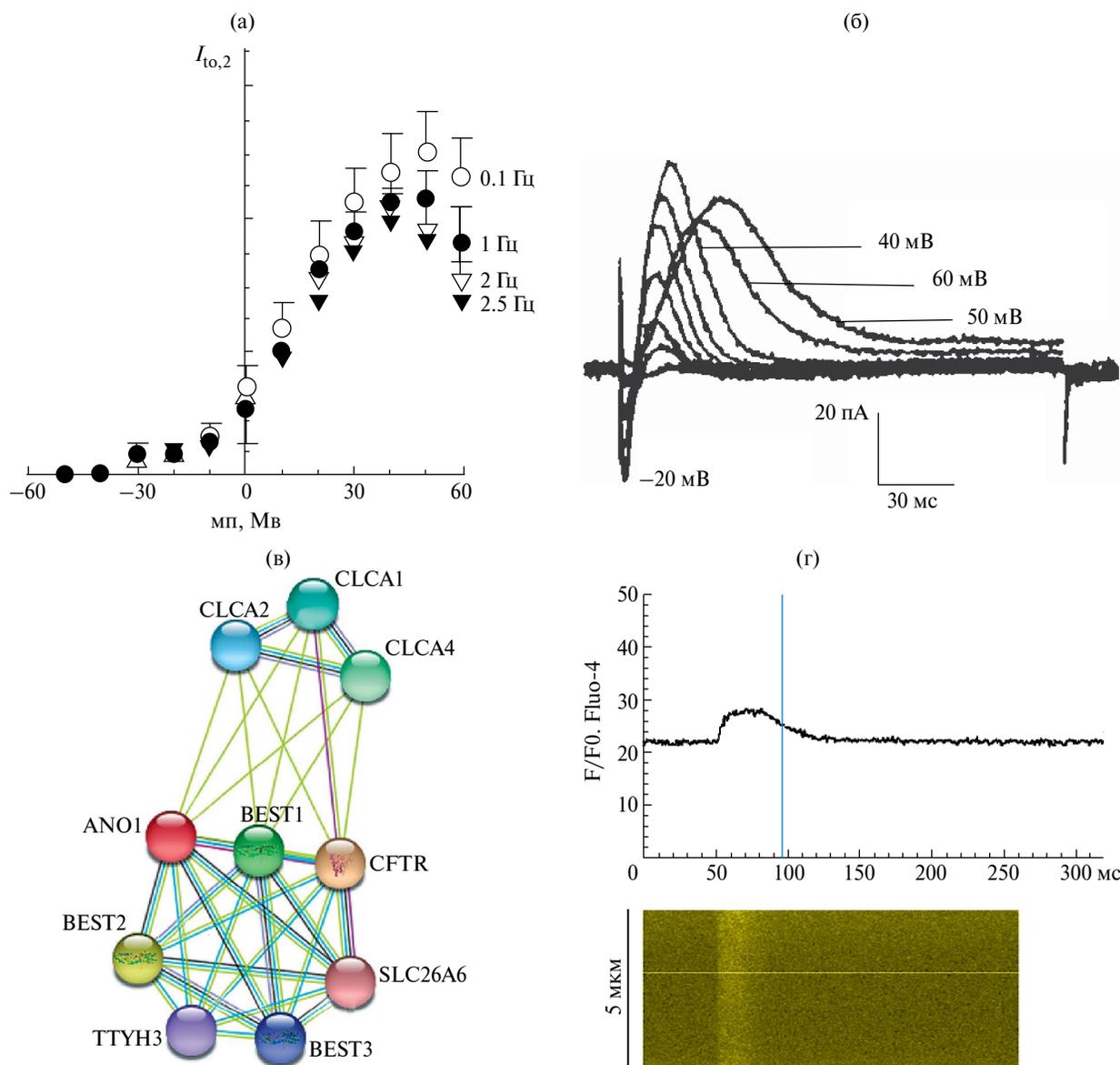


Рис. 3. Свойства кальций-зависимого хлорного тока $I_{to,2}$ канала TMEM16A (Ano1): а – вольт-амперная характеристика $I_{to,2}$ при разных частотах стимуляции (0,1–2,5 Гц). Приведено с изменениями по Wang Zh. et al., Am. J. Physiol., 268, H1992-H2002, 1995; б – оригинальные записи $I_{to,2}$ при ступенчатом протоколе изменения поддерживаемого потенциала от –20 до +60 мВ. приведено с изменениями по Li G-R et al., Am. J. Physiol., 269, H463-H472, 1995; в – взаимодействие кальций-зависимого хлорного канала TMEM16A (ANO1), являющегося молекулярным субстратом $I_{to,2}$, с различными белками. ANO1 – кальций-зависимый хлорный канал TMEM16A, CLCA1, CLCA2, CLCA4 – регуляторные субъединицы хлорных каналов, BEST1, BEST2, BEST3 – бестрофины 1–3, CFTR – трансмембранный регулятор муковисцидоза, SLC26A6 – хлор-бикарбонатный обменник, ТТҮН3 – белок семейства tweety; г – репрезентативные примеры спонтанных “кальциевых волн”, регистрируемых в изолированных кардиомиоцитах. Сверху – кривые флюоресценции Fluo-4, полученные в результате усреднения значений по линии сканирования 5 мкм, снизу – псевдоизображения, отражающие изменение уровня флюоресценции во времени (за 300 мс) по линии сканирования (горизонтальная ось – время, вертикальная ось – линия сканирования).

(возрастает и падает) на 4–5 порядков. Так как CaCC/TMEM16A(B) каналы являются Ca^{2+} -активируемыми, то их проводимость в ходе кардиоцикла меняется многократно. В рабочих кардиомиоцитах и волокнах Пуркинью пик $[Ca^{2+}]_i$ и максимальное значение ЭДС для Cl^- почти совпадают

по времени, усиливая выходящую реполяризующую компоненту $I_{to,2}$, благодаря чему этот ток формирует выраженную начальную реполяризацию ПД. В ходе реполяризации ПД развивается инактивация CaCC/TMEM16A(B), концентрация Ca^{2+} снижается и одновременно уменьшается

ЭДС для Cl^- . Таким образом, вклад $I_{\text{to},2}$ в конфигурацию ПД уменьшается (см. рис. 2, д). Блокирование $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ приводит к подавлению фазы ранней реполяризации ПД и небольшому увеличению ДПД [66, 81]. Соединение 9-АС, блокирующее TMEM16A , увеличивает ДПД в миокарде левого желудочка и приводит к увеличению частоты встречаемости ранних и задержанных постдеполяризаций в желудочковых кардиомиоцитах собак, особенно при стимуляции β -АР [28]. Поскольку снижение рН активирует $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$, то $I_{\text{to},2}$ ($I_{\text{Cl,Ca}}$) может предотвращать постдеполяризации при ацидозе, что продемонстрировано в экспериментах с кардиомиоцитами желудочков кролика [35]. Предполагается, что $I_{\text{Cl,Ca}}$ способствует уменьшению трансмуральной и апико-базальной гетерогенности реполяризации миокарда [33].

Важно, что в рабочем миокарде при МП, близком к ПП ($-80 \pm 2\text{ мВ}$, негативнее E_{Cl}), входящая реполяризующая компонента тока, формируемого $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$, является незначительной, поскольку базальная $[\text{Ca}^{2+}]_i$ крайне низка. Поэтому $I_{\text{to},2}$ ($I_{\text{Cl,Ca}}$) не приводит к сдвигу ПП к менее негативным значениям в нормальных условиях. Тем не менее увеличение базальной $[\text{Ca}^{2+}]_i$ способствует деполяризирующему действию входящей компоненты тока, формируемого $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$. Поскольку ток, возникающий в физиологических условиях, принято обозначать как $I_{\text{to},2}$, то “аномальный” Ca^{2+} -зависимый хлорный ток, формируемый $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$, предпочтительно обозначать как $I_{\text{Cl,Ca}}$.

При кальциевой перегрузке кардиомиоцитов усиление $I_{\text{Cl,Ca}}$ может приводить к противоположному эффекту в сравнении с тем, что наблюдается в “здоровых” клетках – к индукции триггерной активности и аритмий по типу re-entry [22, 42]. Условия для активации $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ и формирования деполяризующей компоненты $I_{\text{Cl,Ca}}$ при кальциевой перегрузке достигаются в последнюю фазу реполяризации ПД, поскольку именно в этот период электрическое поле способствует перемещению Ca^{2+} в Ca^{2+} -связывающий карман. Поэтому $I_{\text{Cl,Ca}}$ способствует формированию задержанных постдеполяризаций и является компонентой I_{DAD} наряду с $I_{\text{Cl,ir}}$ [69, 82, 87]. Ишемия, вероятно за счет повышения базальной $[\text{Ca}^{2+}]_i$, приводит к значительному усилению $I_{\text{Cl,Ca}}$, поскольку подавляется соединением T16Ainh-A01, демонстрирующим значительную избирательность для TMEM16A [73]. Усиление окислительного стресса в ишемизированной ткани сердца и повышение уровня H_2O_2 также могут приводить к активации $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ и усилению $I_{\text{Cl,Ca}}$ [44].

В пейсмекерных кардиомиоцитах, в отличие от рабочих, повышение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ предшествует

деполяризации и формированию ПД (см. рис. 3, г). Кроме того, рост $[\text{Ca}^{2+}]_i$ происходит в период, когда в ходе МДД значения МП негативнее E_{Cl} . В таком случае активация $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ будет приводить к усилению входящей компоненты $I_{\text{to},2}$ ($I_{\text{Cl,Ca}}$) и способствовать деполяризации, ускорению конечной фазы МДД и усилению автоматии САУ. С другой стороны, медленный спад $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (см. рис. 2, е) в пейсмекерных кардиомиоцитах может приводить к большему влиянию $I_{\text{to},2}$ ($I_{\text{Cl,Ca}}$) на конфигурацию ПД в САУ, чем в миокарде предсердий желудочков. Таким образом, роль каналов $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ и тока $I_{\text{to},2}$ ($I_{\text{Cl,Ca}}$) может существенно различаться для пейсмекерной и рабочей ткани сердца.

Функциональная роль хлорных транспортеров и обменников кардиомиоцитов

Как указано выше, $[\text{Cl}^-]_i$ в кардиомиоцитах определяется уровнем и соотношением экспрессии переносчиков НКСС и КСС [96], которые разнонаправленно влияют на $[\text{Cl}^-]_i$. Четко показано, что блокирование НКСС приводит к снижению $[\text{Cl}^-]_i$, тогда как подавление активности КСС приводит к увеличению $[\text{Cl}^-]_i$ как в кардиомиоцитах, так и в других тканях [61]. Изменение уровня экспрессии и/или работы переносчиков хлора обязательно приводит к изменению E_{Cl} и хлорных токов, а также оказывает существенное влияние на биоэлектрическую активность кардиомиоцитов разных отделов сердца. Баланс активности НКСС и КСС и “установочная точка” для $[\text{Cl}^-]_i$ изменяются в миокарде в ходе онтогенеза и формировании патологий.

Роль КСС в кардиомиоцитах

Молекулы трансмембранных переносчиков КСС устроены таким образом, что посредством них ионы могут перемещаться как в направлении внеклеточной, так и в направлении внутриклеточной среды. Тем не менее, в кардиомиоцитах при $E_{\text{к}} = -90\text{ мВ}$ для КСС отсутствует потенциал реверсии, а ЭДС при всех значениях мембранного потенциала и практически любых значениях $[\text{Cl}^-]_i$ (т. е. при $E_{\text{Cl}} = -66...40\text{ мВ}$) “заставляет” пару ионов K^+ и Cl^- перемещаться из цитоплазмы во внеклеточную среду (см. рис. 4, а). Таким образом, котранспортеры КСС способствуют снижению $[\text{Cl}^-]_i$ при любых значениях МП. Как указано выше, КСС является электронейтральным переносчиком – суммарный переносимый им заряд и трансмембранный ток является нулевым. Однако интенсивность переноса пары ионов K^+ и Cl^- (сумма разнонаправленных токов) во внеклеточную среду посредством КСС будет тем больше, чем положительнее мембранный потенциал (см. рис. 4, в). Иными словами, выведение анионов хлора из

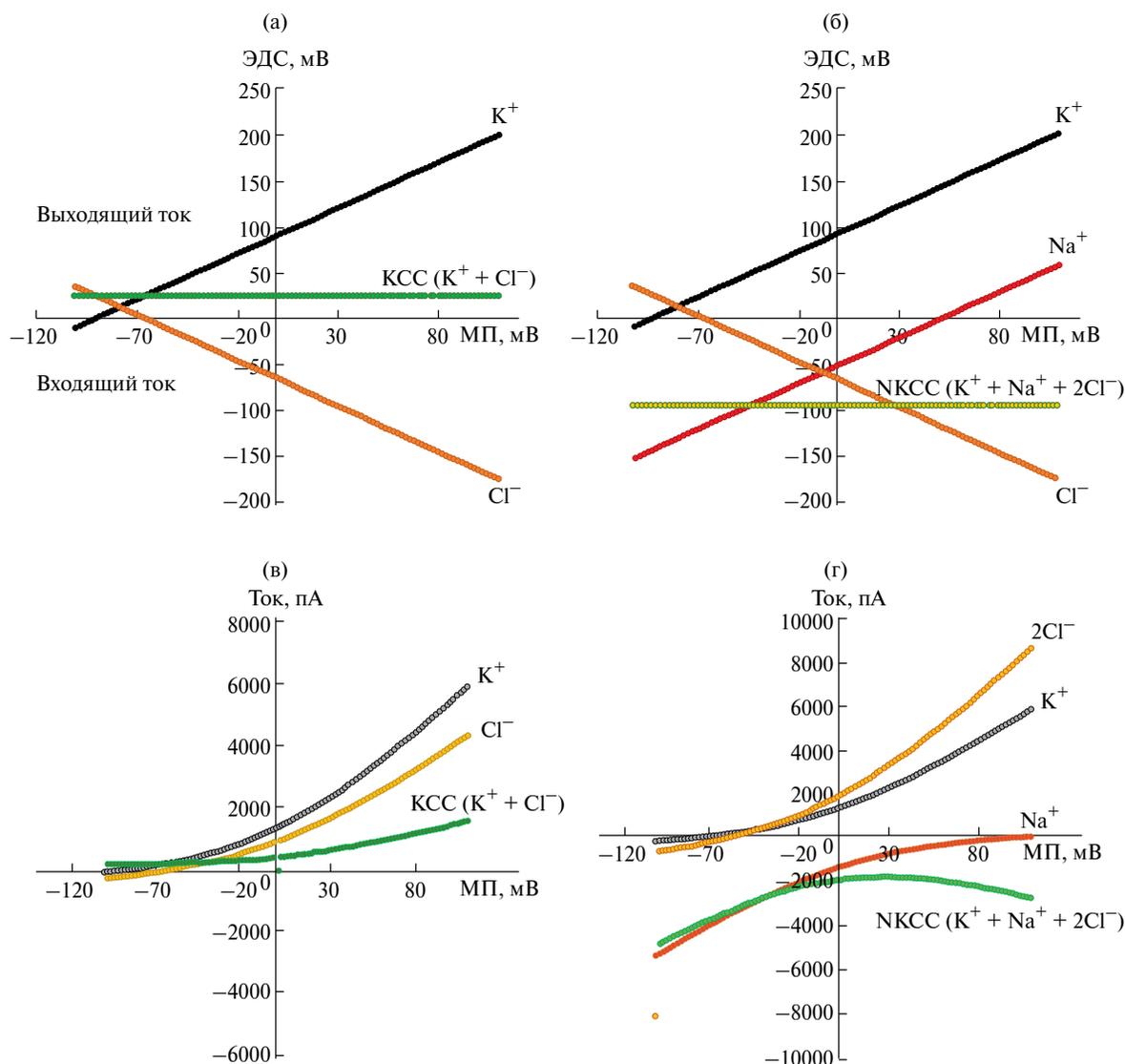


Рис. 4. Электрические характеристики хлор-катионных котранспортеров: а – зависимость электродвижущей силы (ЭДС) от мембранного потенциала (МП) для ионов калия, хлора и котранспортера КСС; б – зависимость электродвижущей силы (ЭДС) от мембранного потенциала (МП) для ионов натрия, калия, хлора и котранспортера НКСС; в – вольт-амперная характеристика калиевого и хлорного токов, а также суммарного тока котранспортера КСС; г – вольт-амперная характеристика натриевого, калиевого и хлорного токов, а также суммарного тока котранспортера НКСС.

цитоплазмы происходит эффективнее не при ПП, а во время деполяризации кардиомиоцитов.

Роль НКСС в кардиомиоцитах

Как и в случае с КСС, трансмембранный импорт ионов Na^+ , K^+ и Cl^- посредством НКСС может осуществляться в двух направлениях. Однако как и для КСС, в кардиомиоцитах для НКСС отсутствует потенциал реверсии, и ЭДС при всех значениях МП и любых значениях $[Cl^-]_i$ “заставляет” ионы Na^+ , K^+ и Cl^- перемещаться из внеклеточной во внутриклеточную среду (Рис. 4. б). Таким образом, НКСС всегда способствует увеличению $[Cl^-]_i$.

Несмотря на электронейтральность, интенсивность перемещения (“поток”) Na^+ , K^+ и Cl^- во внеклеточную среду посредством НКСС зависит от МП – эта зависимость колоколообразная. Наименьший “поток” наблюдается в диапазоне 0...+30 мВ, а при больших положительных и отрицательных значениях МП “поток” увеличивается (см. рис. 5. г). Таким образом, в противоположность КСС, поступление Cl^- в цитоплазму кардиомиоцитов, опосредуемое НКСС, будет наибольшим при МП, близком к ПП, а наименьшим – при МП, близком к значениям, соответствующим овершуту ПД (Рис. 5. г).

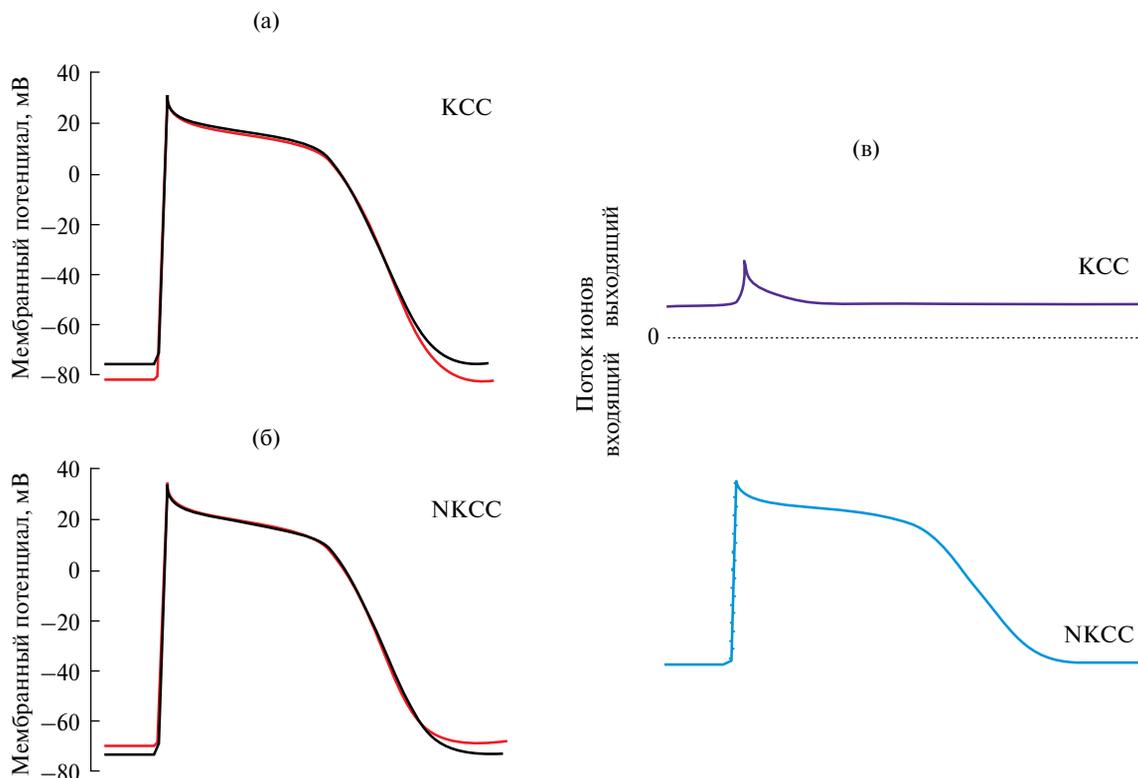


Рис. 5. Эффекты активации хлор-катионных котранспортеров на электрическую активность рабочего миокарда: а – изменение конфигурации потенциала действия кардиомиоцита рабочего миокарда при активации котранспортера ионов хлора и калия КСС (красный цвет, с учетом активности КСС) по сравнению с контролем (черный цвет, без учета активности КСС); б – изменение конфигурации потенциала действия кардиомиоцита рабочего миокарда при активации котранспортера ионов хлора и калия NKCC (красный цвет, с учетом активности NKCC) по сравнению с контролем (черный цвет, без учета активности NKCC); в – изменение интенсивности потока ионов хлора через котранспортеры КСС и NKCC в зависимости от мембранного потенциала.

Уровень $[Cl^-]_i$ определяется не только соотношением экспрессии КСС/NKCC, но и, при прочих равных условиях, соотношением продолжительности пребывания кардиомиоцитов в покое и деполяризованном состоянии, а также уровнем ПП. Интенсивность переноса хлора КСС и NKCC в рабочих и пейсмекерных кардиомиоцитах будет разной. Работа КСС и NKCC в этих двух типах клеток даже при одинаковом уровне экспрессии будет приводить к установлению различных значений $[Cl^-]_i$ и E_{Cl} (см. рис. 5, а–б).

Изменения экспрессии и функционирования NKCC1 наблюдаются при патологиях сердечно-сосудистой системы. У животных, нокаутных по NKCC1, наблюдается сократительная дисфункция кардиомиоцитов [63]. В экспериментальных моделях сердечной недостаточности наблюдается двукратное увеличение экспрессии NKCC1 в изолированных кардиомиоцитах [3]. Важно, что фармакологические соединения, влияющие на NKCC и используемые для терапии артериальной гипертензии, оказывают эффекты не только в нефронах. Например, петлевые диуретики фуросемид и буметанид приводят к гиперполяризации ГМК стенки

сосудов [61], а также вызывают снижение $[Cl^-]_i$ в ГМК и, возможно, в кардиомиоцитах [5, 61].

В литературе имеются противоречивые сведения касательно регуляции NKCC1 факторами вегетативной нервной системы. В частности, в некоторых работах показано, что стимуляция α_1 -АР приводит к активации NKCC1, в других же работах показан обратный эффект – подавление активности NKCC1 [4, 5, 57]. Однако установлено, что симпатическая/адренергическая стимуляция, опосредованная как α - так и β -АР, приводит к реципрокному изменению активности NKCC и КСС. Таким образом, активация адренорецепторов синергично влияет на E_{Cl} и $[Cl^-]_i$. Важно отметить, что адренергическая регуляция NKCC и КСС, видимо, не опосредуется классическими серин-треониновыми киназами (PKA, PKC).

Роль Cl^-/HCO_3^- -обменников в кардиомиоцитах

Считается, что основной функцией Cl^-/HCO_3^- -обменников в кардиомиоцитах является предотвращение повышения внутриклеточного pH [52, 53]. Хлор-бикарбонатные обменники

выводят во внеклеточную среду HCO_3^- за счет поступления по градиенту концентрации в цитоплазму ионов Cl^- . В миокарде и в кардиомиоцитах $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменники практически всегда способствуют увеличению $[\text{Cl}^-]_i$ и сдвигу E_{Cl} в сторону менее отрицательных значений. Таким образом, уровень экспрессии и функционирование $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменников, наряду с КСС и НКСС1, будет определять $[\text{Cl}^-]_i$ и посредством I_{Cl} может влиять на автоматию пейсмекерных клеток САУ.

Хлор-бикарбонатные обменники функционально сопряжены с парой КСС/НКСС. Показано, что при подавлении работы обменника АЕЗ происходит увеличение активности НКСС1, компенсация $[\text{Cl}^-]_i$ и рост $[\text{Na}^+]_i$, что приводит к изменению биоэлектрических свойств кардиомиоцитов [63].

Изменение активности и экспрессии хлор-бикарбонатных обменников АЕ1-3 сопряжено с рядом сердечных патологий. Показано, что у крыс с гипертрофией сердца наблюдаются усиление работы $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменника [25] и увеличение экспрессии АЕ3β [10, 11]. У мышей, нокаутных по АЕ3, наблюдается снижение отношения массы сердца к массе тела по сравнению с мышами дикого типа. Ингибиторы карбоангидразы приводят к снижению выраженности гипертрофии, т. е. изменение активности АЕ3 играет важную роль в патогенезе гипертрофии миокарда [2, 13].

Предполагается, что в отличие от АЕ1-3 обменники SLC26A3 и SLC26A6 не являются электронейтральными. Для SLC26A6 характерна стехиометрия $1\text{Cl}^-/n\text{HCO}_3^-$ ($n \geq 2$), в то время как для SLC26A3 – наоборот, $2\text{Cl}^-/1\text{HCO}_3^-$. Таким образом, SLC26A6 генерирует деполяризующий ток, и может, например, облегчать автоматию САУ за счет деполяризации и повышения $[\text{Cl}^-]_i$. Обменник SLC26A3 генерирует гиперполяризующий ток. Физиологическая значимость этого тока не ясна, поскольку экспрессия SLC26A3 в кардиомиоцитах низка [47, 77].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно накопленным данным, хлорные каналы и хлорные переносчики принципиально важны для нормального функционирования пейсмекера, проводящей системы и сократительного миокарда сердца. На основе имеющихся к настоящему моменту сведений о структуре и свойствах хлорных каналов и обменников можно заключить, что трансмембранный перенос ионов хлора является крайне сложно и тонко регулируемым процессом в кардиомиоцитах, который оказывает разнонаправленное влияние на электрофизиологические свойства отделов сердца и его ритмоводителя. Как показано выше, хлорные токи могут приводить к усилению или ослаблению автоматики доминантного пейсмекера сердца, облегчать или подавлять

проведение возбуждения в АВУ в определенных условиях, оказывать влияние на сократимость рабочего миокарда, регулируя конфигурацию потенциалов действия и распространение возбуждения в желудочковом миокарде. Тем не менее большое количество молекул, участвующих в трансмембранном переносе хлора и множественность механизмов регуляции уровня цитоплазматического уровня ионов хлора делают крайне сложным исследование роли хлора в формировании электрической активности кардиомиоцитов, а также в организованной и скоординированной работе камер сердца. В дополнение, множественность путей регуляции функционирования белковых мембранных комплексов, демонстрирующих свойства хлорных каналов, ограничивает изучение их вклада в физиологическую адаптацию кардиомиоцитов либо их роли в патологической перестройке миокарда.

В итоге, несмотря на целый спектр установленных эффектов, в значительной степени роль баланса хлора и хлорной проводимости в электрофизиологии сердца остается малоисследованной. Например, данные об эффектах механочувствительного трансмембранного хлорного тока, формируемого каналами LRRC8x ($I_{\text{Cl,swell}}$) в миокарде, как в нормальных, так и в патологических условиях остаются противоречивыми. Кроме того, сложность и обилие механизмов, участвующих в регуляции работы CaCC/TMEM16A в доминантном ритмоводителе и в рабочем миокарде сердца, затрудняет изучение влияния кальций-зависимой хлорной проводимости ($I_{\text{Cl,Ca}}$) на биоэлектрическую активность миокарда. Важным направлением является определение уровня и соотношения экспрессии основных обменников и котранспортеров анионов хлора в миокарде, так как баланс НКСС, КСС и $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -антипортеров, в конечном итоге, определяет степень и тип влияния ионов хлора на электрическую активность пейсмекерного и рабочего миокарда.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-15-00189).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Akita H., Yoshie S., Ishida T., Takeishi Y., Hazama A. Negative chronotropic and inotropic effects of lubiprostone on iPS cell-derived cardiomyocytes via activation of CFTR // BMC Complement Med. Ther. 2020. V. 20. № 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02923-6>
2. Alvarez B.V., Fujinaga J., Casey J.R. Molecular basis for angiotensin II-induced increase of chloride/bicarbonate exchange in the myocardium // Circ.

- Res. 2001. V. 89. № 12. P. 1246–1253.
<https://doi.org/10.1161/hh2401.101907>
3. *Andersen G.O., Oie E., Vinge L.E. et al.* Increased expression and function of the myocardial Na-K-2Cl cotransporter in failing rat hearts // *Basic Res. Cardiol.* 2006. V. 101. № 6. P. 471–478.
<https://doi.org/10.1007/s00395-006-0604-5>
 4. *Andersen G.O., Skomedal T., Enger M. et al.* α 1-AR-mediated activation of NKCC in rat cardiomyocytes involves ERK-dependent phosphorylation of the cotransporter // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2004. V. 286. № 55. P. 1354–1360.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00549.2003>
 5. *Anfinogenova Y.J., Baskakov M.B., Kovalev I.V. et al.* Cell-volume-dependent vascular smooth muscle contraction: Role of Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransport, intracellular Cl⁻ and L-type Ca²⁺ channels // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2004. V. 449. № 1. P. 42–55.
<https://doi.org/10.1007/s00424-004-1316-z>
 6. *Britton F.C., Hatton W.J., Rossow C.F. et al.* Molecular distribution of volume-regulated chloride channels (ClC-2 and ClC-3) in cardiac tissues // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2000. V. 279. № 48. P. 2225–2233.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.5.h2225>
 7. *Britton F.C., Wang G.L., Huang Z.M. et al.* Functional characterization of novel alternatively spliced ClC-2 chloride channel variants in the heart // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 27. P. 25871–25880.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M502826200>
 8. *Brown H.F., Giles W., Noble S.J.* Membrane currents underlying activity in frog sinus venosus // *J. Physiol.* 1977. V. 271. № 3. P. 783–816.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1977.sp012026>
 9. *Chen H., Liu L.L., Ye L.L. et al.* Targeted inactivation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel gene prevents ischemic preconditioning in isolated mouse heart // *Circulation.* 2004. V. 110. № 6. P. 700–704.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000138110.84758.BB>
 10. *Chiappe De Cingolani G., Morgan P., Mundiña-Weilenmann C. et al.* Hyperactivity and altered mRNA isoform expression of the Cl⁻/HCO₃⁻ anion-exchanger in the hypertrophied myocardium // *Cardiovasc. Res.* 2001. V. 51, № 1. P. 71–79.
[https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(01\)00276-0](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(01)00276-0)
 11. *Cingolani H.E., Chiappe G.E., Ennis I.L. et al.* Influence of Na⁺-Independent Cl⁻-HCO₃⁻ Exchange on the Slow Force Response to Myocardial Stretch // *Circ. Res.* 2003. V. 93. № 11. P. 1082–1088.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000102408.25664.01>
 12. *Cohn J.A., Nairn A.C., Marino C.R., Melhus O., Kole J.* Characterization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in a colonocyte cell line // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. № 6. P. 2340–2344.
<https://doi.org/10.1073/pnas.89.6.2340>
 13. *Counillon L., Pouysségur J.* The expanding family of eucaryotic Na⁺/H⁺ exchangers // *J. of Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 1. P. 1–4.
<https://doi.org/10.1074/jbc.275.1.1>
 14. *Csanády L., Vergani P., Gadsby D.C.* Structure, gating, and regulation of the CFTR anion channel // *Physiol. Rev.* 2019. V. 99. № 1. P. 707–738.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2018>
 15. *Cuppoletti J., Tewari K.P., Sherry A.M., Ferrante C.J., Malinowska D.H.* Sites of protein kinase A activation of the human ClC-2 Cl⁻ channel // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 21. P. 21849–56.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M312567200>
 16. *Duan D.* Phenomics of cardiac chloride channels: The systematic study of chloride channel function in the heart // *J. of Physiol.* 2009. V. 587. P. 2163–2177.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.165860>
 17. *Duan D., Hume J.R., Nattel S.* Evidence that outwardly rectifying Cl⁻ channels underlie volume-regulated Cl⁻ currents in heart // *Circ. Res.* 1997. V. 80. № 1. P. 103–113.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.80.1.103>
 18. *Duan D., Ye L., Britton F., Horowitz B., Hume J.R.* A novel anionic inward rectifier in native cardiac myocytes. // *Circ. Res.* 2000. V. 86. № 4. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1161/01.res.86.4.e63>
 19. *Duan D., Ye L., Britton F. et al.* Purinoceptor-coupled Cl⁻ channels in mouse heart: A novel, alternative pathway for CFTR regulation // *J. Physiol.* 1999. V. 521. № 1. P. 43–56.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.00043.x>
 20. *Duan D.D.* The ClC-3 chloride channels in cardiovascular disease // *Acta Pharmacol. Sin.* 2011. V. 32. № 6. P. 675–684.
<https://doi.org/10.1038/aps.2011.30>
 21. *Duan D.D.* Phenomics of cardiac chloride channels // *Compr. Physiol.* 2013. V. 3. № 2. P. 667–692.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.165860>
 22. *Duan D.Y., Liu L.L.H., Bozeat N. et al.* Functional role of anion channels in cardiac diseases // *Acta*

- Pharm. Sinica. 2005. V. 26. № 3. P. 265–287.
<https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2005.00061.x>
23. *Duran C., Thompson C.H., Xiao Q., Hartzell H.C.* Chloride channels: Often enigmatic, rarely predictable // *Annu. Rev. Physiol.* 2009. V. 72. P. 95–121.
<https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135811>
 24. *Egorov Y.V., Lang D., Tyan L. et al.* Caveolae-Mediated Activation of Mechanosensitive Chloride Channels in Pulmonary Veins Triggers Atrial Arrhythmogenesis // *J. Am. Heart Assoc.* 2019. V. 8. № 20. P. 1–41.
<https://doi.org/10.1161/JAHA.119.012748>
 25. *Ennis I.L., Alvarez B.V., Camili6n De Hurtado M.C., Cingolani H.E.* Enalapril induces regression of cardiac hypertrophy and normalization of pH(i) regulatory mechanisms // *Hypertension.* 1998. V. 31. № 4. P. 961–967.
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.31.4.961>
 26. *Frace A.M., Maruoka F., Noma A.* Control of the hyperpolarization-activated cation current by external anions in rabbit sino-atrial node cells. // *J. Physiol.* 1992. V. 453. № 1. P. 307–318.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019230>
 27. *Fritsch J., Edelman A.* Modulation of the hyperpolarization-activated Cl⁻ current in human intestinal T84 epithelial cells by phosphorylation // *J. Physiol.* 1996. V. 490. № 1. P. 115–128.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021130>
 28. *Fül6p L., Fiák E., Szentandrásy N. et al.* The role of transmembrane chloride current in afterdepolarisations in canine ventricular cardiomyocytes // *Gen. Physiol. Biophys.* 2003. V. 22. № 3. P. 341–353.
 29. *Gao Z., Sun H.Y., Lau C.P., Chin-Wan Fung P., Li G.R.* Evidence for cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride current in swine ventricular myocytes // *J Mol. Cell Cardiol.* 2007. V. 42. № 1. P. 98–105.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.10.002>
 30. *Han Y.E., Kwon J., Won J. et al.* Tweety-homolog (Ttyh) family encodes the pore-forming subunits of the swelling-dependent volume-regulated anion channel (VRAC_{swell}) in the brain // *Exp. Neurobiol.* 2019. V. 28. № 2. P. 183–215.
<https://doi.org/10.5607/en.2019.28.2.183>
 31. *Hansen T.H., Yan Y., Ahlberg G. et al.* A Novel Loss-of-Function Variant in the Chloride Ion Channel Gene *Clcn2* Associates with Atrial Fibrillation // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 1–10.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-58475-9>
 32. *Hart P., Warth J.D., Levesque P.C. et al.* Cystic fibrosis gene encodes a cAMP-dependent chloride channel in heart // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. № 13. P. 6343–6348.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.13.6343>
 33. *Hegyi B., Horváth B., Váczi K. et al.* Ca²⁺-activated Cl⁻ current is antiarrhythmic by reducing both spatial and temporal heterogeneity of cardiac repolarization // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2017. V. 109. P. 27–37.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2017.06.014>
 34. *Hiraoka M., Kawano S., Hirano Y., Furukawa T.* Role of cardiac chloride currents in changes in action potential characteristics and arrhythmias // *Cardiovasc. Res.* 1998. V. 40. № 1. P. 23–33.
[https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(98\)00173-4](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(98)00173-4)
 35. *Hirayama Y., Kuruma A., Hiraoka M., Kawano S.* Calcium-activated Cl⁻ current is enhanced by acidosis and contributes to the shortening of action potential duration in rabbit ventricular myocytes // *Jpn. J. Physiol.* 2002. V. 52. № 3. P. 293–300.
<https://doi.org/10.2170/jjphysiol.52.293>
 36. *Horváth B., Váczi K., Hegyi B. et al.* Sarcolemmal Ca²⁺-entry through L-type Ca²⁺ channels controls the profile of Ca²⁺-activated Cl⁻ current in canine ventricular myocytes // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2016. V. 97. P. 125–139.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.05.006>
 37. *Huang Z.M., Prasad C., Britton F.C. et al.* Functional role of CLC-2 chloride inward rectifier channels in cardiac sinoatrial nodal pacemaker cells // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2009. V. 47. № 1. P. 121–132.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.04.008>
 38. *Hume J.R., Duan D., Collier M.L., Yamazaki J., Horowitz B.* Anion transport in heart // *Physiol. Rev.* 2000. V. 80. № 1. P. 31–81.
<https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.1.31>
 39. *Hume J.R., Hart P., Levesque P.C. et al.* Molecular physiology of CFTR Cl⁻ channels in heart // *Jpn. J. Physiol.* 1994. V. 44. № 2.
 40. *Hutter O.F., Noble D.* Anion conductance of cardiac muscle // *J. Physiol.* 1961. V. 157. № 2. P. 335–350.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1961.sp006726>
 41. *James A.F.* Enigmatic variations: The many facets of CFTR function in the heart // *Acta Physiol.* 2020. V. 230. № 1. P. 5–6.
<https://doi.org/10.1111/apha.13525>
 42. *January C.T., Fozzard H.A.* Delayed afterdepolarizations in heart muscle: Mechanisms and relevance // *Pharmacol. Rev.* 1988. V. 40. № 3.
 43. *Jentsch T.J., Pusch M.* CLC chloride channels and transporters: Structure, function, physiology,

- and disease // *Physiol. Rev.* 2018. V. 98. № 3. P. 1493–1590.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2017>
44. *Jeulin C., Guadagnini R., Marano F.* Oxidant stress stimulates Ca²⁺-activated chloride channels in the apical activated membrane of cultured nonciliated human nasal epithelial cells // *Am. J. Physiol. – Lung Cell Mol. Physiol.* 2005. V. 289. № 33. P. 636–646.
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00351.2004>
45. *Jiang K., Jiao S., Vitko M. et al.* The impact of Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Disruption on cardiac function and stress response // *J. Cyst. Fibros.* 2016. V. 15. № 1. P. 34–42.
<https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.06.003>
46. *Jin X., Shah S., Liu Y. et al.* Activation of the Cl–Channel ANO1 by localized calcium signals in nociceptive sensory neurons requires coupling with the IP3 receptor // *Sci. Signal.* 2013. V. 6. № 290.
<https://doi.org/10.1126/scisignal.2004184>
47. *Kim H.J., Myers R., Sihm C.R. et al.* Slc26a6 functions as an electrogenic Cl/HCO₃ exchanger in cardiac myocytes // *Cardiovasc. Res.* 2013. V. 100. № 3. P. 383–391.
<https://doi.org/10.1093/cvr/cvt195>
48. *Komukai K., Brette F., Orchard C.H.* Electrophysiological response of rat atrial myocytes to acidosis // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2002. V. 283. № 52–2. P. 715–724.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01000.2001>
49. *Kunzelmann K.* CFTR: Interacting with everything? // *News Physiol. Sci.* 2001. V. 16. № 4. P. 167–170. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2001.16.4.167>
50. *Kuzumoto M., Takeuchi A., Nakai H. et al.* Simulation analysis of intracellular Na⁺ and Cl–homeostasis during β1-adrenergic stimulation of cardiac myocyte // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2008. V. 96. № 1–3. P. 171–186.
<https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2007.07.005>
51. *Lader A.S., Wang Y., Jackson G.R., Borkan S.C., Cantiello H.F.* cAMP-activated anion conductance is associated with expression of CFTR in neonatal mouse cardiac myocytes // *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* 2000. V. 278. № 47–2. P. 436–440. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.278.2.c436>
52. *Lai Z.F., Nishi K.* Intracellular chloride activity increases in guinea pig ventricular muscle during simulated ischemia // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 1998. V. 44. № 5. P. 1613–1619.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1998.275.5.h1613>
53. *Leem C.H., Lagadic-Gossmann D., Vaughan-Jones R.D.* Characterization of intracellular pH regulation in the guinea-pig ventricular myocyte // *J. Physiol.* 1999. V. 517. № 1. P. 159–180.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.0159z.x>
54. *Li B., Hoel C.M., Brohawn S.G.* Structures of tweety homolog proteins TTYH2 and TTYH3 reveal a Ca²⁺-dependent switch from intra- to intermembrane dimerization // *Nat. Commun.* 2021. V. 12. № 1. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-27283-8>
55. *Li C., Huang D., Tang J. et al.* ClC-3 chloride channel is involved in isoprenaline-induced cardiac hypertrophy // *Gene.* 2018. V. 642. P. 335–342.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.11.045>
56. *Litviňuková M., Talavera-López C., Maatz H. et al.* Cells of the adult human heart // *Nature.* 2020. V. 588. № 7838. P. 466–472.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2797-4>
57. *Meor Azlan N.F., Zhang J.* Role of the Cation-Chloride-Cotransporters in Cardiovascular Disease // *Cells.* 2020. V. 9. № 10. P. 1–21.
<https://doi.org/10.3390/cells9102293>
58. *Miller A.N., Vaisey G., Long S.B.* Molecular mechanisms of gating in the calcium-activated chloride channel bestrophin // *Elife.* 2019. V. 8. P. 1–17.
<https://doi.org/10.7554/eLife.43231>
59. *Modi A.D., Khan A.N., Cheng W.Y.E., Modi D.M.* KCCs, NKCCs, and NCC: Potential targets for cardiovascular therapeutics? A comprehensive review of cell and region specific expression and function // *Acta Histochem.* 2023. V. 125. № 4. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2023.152045>
60. *Okada Y., Sabirov R.Z., Merzlyak P.G., Numata T., Sato-Numata K.* Properties, Structures, and Physiological Roles of Three Types of Anion Channels Molecularly Identified in the 2010's // *Front. Physiol.* 2021. V. 12. P. 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2021.805148>
61. *Orlov S.N., Koltsova S.V., Kapilevich L.V., Dulin N.O., Gusakova S.V.* Cation-chloride cotransporters: Regulation, physiological significance, and role in pathogenesis of arterial hypertension // *Biochem.* 2014. V. 79. № 13. P. 1546–1561.
<https://doi.org/10.1134/S0006297914130070>
62. *Owji A.P., Kittredge A., Zhang Y., Yang T.* Structure and Function of the Bestrophin family of calcium-activated chloride channels // *Channels.* 2021. V. 15. № 1. P. 604–623.
<https://doi.org/10.1080/19336950.2021.1981625>

63. Prasad V., Bodi I., Meyer J.W. et al. Impaired cardiac contractility in mice lacking both the AE3 Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger and the NKCC1 Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter: Effects on Ca²⁺ handling and protein phosphatases // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 46. <https://doi.org/10.1074/jbc.M803706200>
64. Ruiz Petrich E., Ponce Zumino A., Schanne O.F. Early action potential shortening in hypoxic hearts: Role of chloride current(s) mediated by catecholamine release // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1996. V. 28. № 2. P. 279–290. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0026>
65. Scherer C., Linz W., Busch A., Steinmeyer K. Gene expression profiles of CLC chloride channels in animal models with different cardiovascular diseases // *Cell Physiol. Biochem.* 2001. V. 11. № 6. P. 321–330. <https://doi.org/10.1159/000047818>
66. Sellers Z.M., De Arcangelis V., Xiang Y., Best P.M. Cardiomyocytes with disrupted CFTR function require CaMKII and Ca²⁺-activated Cl⁻ channel activity to maintain contraction rate // *J. Physiol.* 2010. V. 588. № 13. P. 2417–2429. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.188334>
67. Seyama I. Characteristics of the anion channel in the sino-atrial node cell of the rabbit. // *J. Physiol.* 1979. V. 294. № 1. P. 447–460. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp012940>
68. Sherry A.M., Stroffekova K., Knapp L.M. et al. Characterization of the human pH⁻ and PKA-activated ClC-2G(2α) Cl⁻ channel // *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* 1997. V. 273. № 42–2. P. 384–393. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.2.c384>
69. Szigeti G., Rusznák Z., Kovács L., Papp Z. Calcium-activated transient membrane currents are carried mainly by chloride ions in isolated atrial, ventricular and Purkinje cells of rabbit heart // *Exp. Physiol.* 1998. V. 83. № 2. P. 137–153. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1998.sp004097>
70. Takagi D., Okamoto Y., Ohba T., Yamamoto H., Ono K. Comparative study of hyperpolarization-activated currents in pulmonary vein cardiomyocytes isolated from rat, guinea pig, and rabbit // *J. Physiol. Sci.* 2020. V. 70. № 1. P. 1–20. <https://doi.org/10.1186/s12576-020-00736-3>
71. Tilly B.C., Bezstarosti K., Boomaars W.E.M. et al. Expression and regulation of chloride channels in neonatal rat cardiomyocytes // *Mol. Cell Biochem.* 1996. V. 157. № 1–2. P. 129–135. <https://doi.org/10.1007/bf00227891>
72. Uramoto H., Takahashi N., Dutta A.K. et al. Ischemia-Induced Enhancement of CFTR Expression on the Plasma Membrane in Neonatal Rat Ventricular Myocytes // *Jpn. J. Physiol.* 2003. V. 53. № 5. P. 357–365. <https://doi.org/10.2170/jjphysiol.53.357>
73. Valverde C.A., Kornyejev D., Ferreira M. et al. Transient Ca²⁺ depletion of the sarcoplasmic reticulum at the onset of reperfusion // *Cardiovasc. Res.* 2010. V. 85. № 4. P. 671–680. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp371>
74. Vandenberg J.I., Bett G.C.L., Powell T. Contribution of a swelling-activated chloride current to changes in the cardiac action potential // *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* 1997. V. 273. № 42–2. P. 541–547. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.2.c541>
75. Voronina Y.A., Fedorov A.V., Chelombitko M.A., Piunova U.E., Kuzmin V.S. α1-Adrenergic Receptors Control the Activity of Sinoatrial Node by Modulating Transmembrane Transport of Chloride Anions // *Biochem. Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol.* 2023. V. 17. № 4. P. 39–50. <https://doi.org/10.1134/S1990747823070061>
76. Wang H.S. Critical role of bicarbonate and bicarbonate transporters in cardiac function // *World J. Biol. Chem.* 2014. V. 5. № 3. P. 334. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v5.i3.334>
77. Wang J., Wang W., Wang H., Tuo B. Physiological and Pathological Functions of SLC26A6 // *Front. Med.* 2020. V. 7. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.618256>
78. Warth J.D., Collier M.L., Hart P. et al. CFTR chloride channels in human and simian heart // *Cardiovasc Res.* 1996. V. 31. № 4. P. 615–624. [https://doi.org/10.1016/0008-6363\(95\)00245-6](https://doi.org/10.1016/0008-6363(95)00245-6)
79. Xiang S.Y., Ye L.L., Duan L.L.M. et al. Characterization of a critical role for CFTR chloride channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury // *Acta Pharmacol Sin.* 2011. V. 32. № 6. P. 824–833. <https://doi.org/10.1038/aps.2011.61>
80. Xiong D., Heyman N.S., Airey J. et al. Cardiac-specific, inducible ClC-3 gene deletion eliminates native volume-sensitive chloride channels and produces myocardial hypertrophy in adult mice // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2010. V. 48. № 1. P. 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.07.003>
81. Xu Y., Dong P.H., Zhang Z., Ahmmed G.U., Chiamvimonvat N. Presence of a calcium-activated chloride current in mouse ventricular myocytes // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2002. V. 283. № 52–1. P. 302–314. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00044.2002>

82. Ye Z., Wu M.M., Wang C.Y. et al. Characterization of cardiac anoctamin1 Ca²⁺-activated chloride channels and functional role in ischemia-induced arrhythmias // *J. Cell Physiol.* 2015. V. 230. № 2. P. 337–346.
<https://doi.org/10.1002/jcp.24709>
83. Yu Y., Ye L., Li Y.G., Burkin D.J., Duan D.D. Heart-specific overexpression of the human short CLC-3 chloride channel isoform limits myocardial ischemia-induced ERP and QT prolongation // *Int. J. Cardiol.* 2016. V. 214. P. 218–224.
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.03.191>
84. Zygmunt A.C. Intracellular calcium activates a chloride current in canine ventricular myocytes // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 1994. V. 267. № 36–5. P. 1984–1995.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.267.5.h1984>
85. Zygmunt A.C., Gibbons W.R. Calcium-activated chloride current in rabbit ventricular myocytes // *Circ Res.* 1991. V. 68. № 2. P. 424–437.
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.1998.sp004097>
86. Zygmunt A.C., Gibbons W.R. Properties of the calcium-activated chloride current in heart // *J. Gen Physiol.* 1992. V. 99. № 3. P. 391–414.
<https://doi.org/10.1085/jgp.99.3.391>
87. Zygmunt A.C., Goodrow R.J., Weigel C.M. et al. I_{NaCa} and I_{Cl(Ca)} contribute to isoproterenol-induced delayed afterdepolarizations in midmyocardial cells I_{NaCa} and I_{Cl(Ca)} contribute to isoproterenol-induced delayed afterdepolarizations in midmyocardial cells // *Am. J. Physiol.* 2013. V. 275. № 6. P. 1979–1992.

Chloride Channels and Transporters – Role in the Electrical Activity of Pacemaker and Working Myocardium

Y. A. Voronina^{1, 2, *}, A. M. Karhov^{1, 2, **}, V. S. Kuzmin^{1, 2, ***}

¹Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

²Smirnov Institute of Experimental Cardiology, Chazov National Medical Research Centre of Cardiology, Moscow, 121552 Russia

*E-mail: voronina.yana.2014@post.bio.msu.ru

**E-mail: akarchoff@gmail.com

***E-mail: ku290381@mail.ru

Abstract – Chlorine anions have a significant influence on the electrophysiological properties of excitable tissues, including myocardium. Chlorine anions and transmembrane chloride currents (I_{Cl}) determine the configuration of action potentials (AP) in various regions of hearts. Disruption of transmembrane chloride transport leads to alterations in normal electrical activity, resulting in cardiac pathologies and arrhythmias. Currently, chloride conductivity and expression in the heart and a functional role have been confirmed for several types of macromolecules. These channels include CFTR, ClC-2, CaCC (TMEM16), and VRAC (LRRC8x). Additionally, chloride cotransporters (KCC, NKCC) and chloride-bicarbonate exchangers make a significant contribution to the regulation of intracellular chloride ion concentration ([Cl⁻]_i) and, consequently, the equilibrium potential for chloride ions (E_{Cl}). The review covers the mechanisms by which chloride transmembrane transport influences the bioelectrical activity of cardiomyocytes and the potential functions of chloride and chloride currents in specialized regions of the heart.

Keywords: sinoatrial node, atrioventricular node, chloride channels, cation-chloride cotransporters, chloride-bicarbonate exchanger.