## ОБЗОР

УДК 591.112.1



# Современные представления о структурной основе и молекулярных механизмах трансмембранного транспорта Cl<sup>-</sup> в кардиомиоцитах

Я.А. Воронина<sup>1, 2, \*</sup>, А.М. Кархов<sup>1, 2</sup>, В.С. Кузьмин<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова,

Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова Минздрава России,

Россия, 121552, г. Москва, ул. Академика Чазова, д. 15а

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

Внутриклеточная концентрация анионов хлора ([Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>), равновесный потенциал для анионов хлора ( $E_{CI}$ ), а также трансмембранные хлорные токи ( $I_{CI}$ ) являются факторами, которые оказывают значительное влияние на электрофизиологические свойства возбудимой ткани, в том числе, миокарда. К настоящему моменту в сердце выявлено несколько типов хлорной (анионной) проводимости. В последние годы идентифицирован целый ряд трансмембранных белков, демонстрирующих хлорную проводимость (CFTR, ClC, TMEM16, LRRC8), а также подтверждена экспрессия этих макромолекул в ткани сердца. Накопленные данные позволяют установить молекулярный субстрат для некоторых хлорных анионных токов ( $I_{Cl}$  рка,  $I_{Cl}$  ir,  $I_{Cl}$  yol,  $I_{Cl}$  swell,  $I_{Cl}$  Ca,  $I_{102}$ ), обнаруживаемых в сердце. Кроме того, установлены молекулярные механизмы регуляции [СІ], и ЕСІ посредством хлорных котранспортеров (КСС, NКСС1) и хлор-бикарбонатных обменников. Множественность структур, определяющих хлорную трансмембранную проводимость, и сложность молекулярных механизмов регуляции хлорного гомеостаза лежат в основе комплексных и зачастую разнонаправленных эффектов активации хлорных переносчиков в ритмоводителе, проводящей системе и рабочем миокарде сердца. В данном обзоре рассмотрены структурные и биофизические свойства, а также молекулярная регуляция белковых комплексов – переносчиков хлора, идентифицированных в миокарде.

**Ключевые слова:** хлорные каналы, катион-хлорные котранспортеры, хлор-бикарбонатный обменник, хлорный транспорт, хлорные токи, электрофизиология сердца

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-2S-4

#### Сокращения:

[Ca<sup>2+</sup>]<sub>і</sub> – внутриклеточная концентрация кальция;

 $[Cl^{-}]_{I}$  — внутриклеточная концентрация анионов хлора;

[Cl<sup>-</sup>]<sub>0</sub> – внеклеточная концентрация анионов хлора:

МП – мембранный потенциал;

СаСС – кальций-зависимые хлорные каналы;

ССС – котранспортеры катионов и хлора (Cation Chloride Cotransporter);

CFTR – трансмембранный регулятор муковисцидоза (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator);

ClC – потенциал-управляемые хлорные каналы (Chloride Channels); Е<sub>СІ</sub> – равновесный потенциал для анионов хлора;

GPCR – рецепторы, сопряженные с G-белком; I<sub>Cl</sub> – трансмембранный хлорный ток;

I<sub>Cl,Ca</sub> — кальций-чувствительный хлорный ионный ток;

I<sub>Cl,ir</sub> — активируемый гиперполяризацией хлорный ток с входящим выпрямлением;

I<sub>С1 РКА</sub> – РКА-зависимый хлорный ток;

КСС – котранспортер калия и хлора;

LRRC – белки, содержащие повторы, обогащенные лейцином (Leucine Rich Repeats Containing);

NKCC – котранспортер калия, натрия и хлора; РКА – протеинкиназа А;

РКС – протеинкиназа С;

VRAC – анионные каналы, регулируемые

объемом (Volume-Regulated Anion Channels).

© Воронина Я.А., Кархов А.М., Кузьмин В.С., 2024

#### 1. Введение

Хлор является преобладающим неорганическим анионом в биологических системах. С середины XX в. известно, что хлор является одним из ионов, формирующих потенциал покоя и определяющих электрофизиологические свойства возбудимых клеток и тканей. Более полувека назад выяснено, что хлор является анионом, за счет которого происходит регуляция объема и осмолярности клеток.

На данный момент очевидно, что внутриклеточная концентрация анионов хлора ([Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>), равновесный потенциал для анионов хлора ( $E_{Cl}$ ), а также трансмембранные хлорные токи ( $I_{Cl}$ ) являются факторами, которые значительно влияют на функционирование нейрональной ткани, мышечных клеток скелетной мускулатуры и гладкомышечных клеток стенки сосудов. К примеру, хлорный гомеостаз определяет возбудимость, величину потенциала покоя, тонус, сократимость, синаптическую передачу и способность к реакции на нейротрансмиттеры в различных типах ткани.

Тем не менее, молекулярные структуры, опосредующие трансмембранную анионную хлорную проводимость в клетках различного типа и в кардиомиоцитах, в частности, долгое время оставались неустановленными и, в ряде случаев, не определены до сегодняшнего момента. Этот факт лежит в основе некоторого игнорирования роли хлорного гомеостаза в физиологии определенных клеток и тканей, например, миокарда. Однако, начиная с 1980-х гг., происходит интенсивное исследование роли хлора в формировании электрической активности кардиомиоцитов. Показано, что анионы хлора и трансмембранные хлорные токи определяют конфигурацию 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.

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. Перемещение анионов хлора через плазматическую мембрану реализуется белками трех функциональных типов: ионными каналами, обменниками и котранспортерами. В данном обзоре рассмотрены хлорные переносчики с четко установленными электрофизиологическими свойствами и молекулярной природой.

#### 2. Трансмембранные хлорные каналы и переносчики

На данный момент свойства хлорных ионных каналов подтверждены для пяти семейств (групп) трансмембранных макромолекул. Первое семейство включает пентамерные лиганд-управляемые анионные каналы (например, рецепторы глицина или рецепторы гамма-аминомасляной кислоты А-типа), относящиеся к классу Cys-петлевых рецепторов. К настоящему времени нет доказательств экспрессии лиганд-управляемых хлорных каналов в миокарде и/или мембране кардиомиоцитов. Единственным представителем второй группы является трансмембранный регулятор му-Fibrosis ковисцидоза (Cystic Transmembrane Conductance Regulator – CFTR) – трансмембранный переносчик АВС-типа, который обладает хлорной проводимостью. Следующее (третье) семейство включает гомодимерные «двухпоровые» потенциал-управляемые хлорные каналы, обозначаемые CIC (Chloride Channels). Однако из 9 типов хлорных каналов семейства ClC, найденных у млекопитающих, только четыре являются «настоящими» каналами (ClC-1, -2, -Ка и -Кb), а остальные —  $Cl^{-}/H^{+}$ -обменники (ClC-3, -4, -5, -6, -7). Четвертое семейство включает потенциали Ca<sup>2+</sup>-зависимые хлорные каналы, обозначаемые СаСС [1]. В настоящее время показано, что свойствами Ca<sup>2+</sup>-зависимого хлорного канала обладагомодимерные «двухпоровые» ЮТ белки ТМЕМ16А и ТМЕМ16В. Наконец, к пятому семейству относятся гексамерные «паннексин-подобные» анионные каналы, регулируемые объемом (Volume-Regulated Anion Channels, VRAC), которые образованы белками группы LRRC8 (белки, содержащие повторы, обогащенные лейцином – Leucine Rich Repeats Containing (LRRC) protein). В настоящее время имеется крайне мало информации касательно функционирования, распределения и регуляции VRAC-каналов, состоящих из мономеров LRRC8 в сердце.

Помимо вышеперечисленных пяти семейств, имеется целый спектр белков или макромолекулярных белковых комплексов, которые имеют признаки хлорной проводимости. Среди таких структур-кандидатов следует упомянуть бестрофины (BEST1-4), ТМЕМ206, белки семейства ТWEETY (ТТҮН1-3), а также белки семейства SLCO2 (SLCO2A1 - трансмембранный переносчик простагландинов). Бестрофины являются пентамерными Ca<sup>2+</sup>-управляемыми хлорными каналами [2] с узким диапазоном чувствительности к внутриклеточному Ca<sup>2+</sup>. Преимущественно бестрофины экспрессируемыми в сетчатке. Димерные белки TWEETY также могут быть Са<sup>2+</sup>-управляемыми хлорными каналами [3]. Предполагается, что ТМЕМ206 является основной, порообразующей субъединицей канала, проводящего рН-чувствительный, активируемый «закислением» (ASOR или PACC) хлорный ток; в свою, очередь, SLCO2A1 возможно является молекулярной основой хлорного тока и каналов сверхвысокой проводимости, обозначаемых «Maxi-Cl» [4]. Имеющиеся к настоящему моменту данные о свойствах вышеперечисленных четырех

типов молекул достаточно противоречивы, а их экспрессия в миокарде надежно не установлена. В связи с этим, здесь будут рассмотрены лишь те макромолекулы, для которых подтверждена хлорная проводимость и экспрессия в сердце, а также имеются сведения, указывающие на функциональную роль этих каналов в миокарде (табл. 1). Перечень таких каналов включает CFTR, ClC-2, CaCC (TMEM16) и VRAC (LRRC8x).

#### 2.1. Трансмембранный регулятор муковисцидоза — CFTR

Каналы CFTR относятся к большому суперсемейству АТФ-связывающих кассетных транспортеров, широко представленных во всех живых организмах [5]. АВС-транспортеры обеспечивают выведение малых органических молекул во внеклеточную среду из мембраны и цитоплазмы за счет гидролиза АТФ. Белки этого семейства имеют довольно консервативную структуру. Молекула канонического АВС-транспортера состоит из четырех доменов, два из которых являются трансмембранными, а остальные два цитозольными или нуклеотид-связывающими. Каждый из двух трансмембранных доменов содержит 6 α-спиралей. Как правило, у эукариот все четыре домена АВСтранспортера являются частью одной полипептидной цепи. CFTR относится к классу С белков ABC, для которых характерна связь четырех доменов в одну полипептидную цепь. Гомологичные части CFTR связаны друг с другом цитозольной регуляторной цепью – R-доменом [5] (рис. 1А).

Каналы CFTR в большом количестве обнаруживаются в кардиомиоцитах (рис. 1А Приложение). Для каналов CFTR характерно так называемое Гольдмановское выпрямление. Это означает, что зависимость величины тока, текущего через CFTR, от мембранного потенциала (вольтамперная характеристика) близка к Гольдмановской (рис. 2А). Такой вид вольт-амперной характеристики указывает на отсутствие каких-либо воротных механизмов в канале CFTR. При записи электрической активности одиночных активированных каналов CFTR наблюдаются типичные дискретные ступенчатые скачки проводимости и дискретные переходы между закрытыми и открытыми состояниями. Достаточно длительные периоды пребывания CFTR в открытом состоянии (0,1-0,2 мс) сменяются периодами закрытого состояния (1-2 мс) [6, 7].

Для того чтобы канал CFTR приобрел способность перейти в открытое состояние, необходимо, во-первых, фосфорилирование регуляторной R-цепи цАМФ-зависимой протеинкиназой (PKA) [8], а во-вторых – связывание AT $\Phi$  с нуклеотид-связывающими доменами [9]. Несмотря на то, что АТФ необходим для открытия канала CFTR, внутриклеточная концентрация AT $\Phi$  не является регулятором активности каналов. поскольку физиологическая регуляция проводимости каналов осуществляется за счет фосфорилирования / дефосфорилирования белка CFTR. Показано, что фосфорилирование CFTR протеинкиназой С (РКС) приводит к открытию канала CFTR [8]. По некоторым данным, полная активация CFTR возможна только при фосфорилировании РКС в дополнение к РКА [10]. На активность СFTR также могут влиять АМФ-зависимая протеинкиназа (АМРК) [11], тирозинкиназы [12] и Са<sup>2+</sup>/кальмодулин-зависимые протеин-киназы (CaMK) [6]. В свою очередь, «классические» фосфатазы белков, например, фосфатаза 2A (PP2A), дефосфорилируя CFTR, снижают его проводимость и уменьшают время пребывания канала в открытом состоянии [13]. Таким образом, CFTR является типичным каналом, проводимость и величина тока которого зависят от уровня фосфорилирования. Считается, что большая часть так называемого РКА-зависимого хлорного тока (I<sub>CLPKA</sub>) формируется каналами CFTR.

Поскольку CFTR является ABC-транспортером, целый ряд органических анионов с молекулярной массой 200–1000 Да могут блокировать CFTR. Как правило, степень блокирования зависит от величины мембранного потенциала (МП) и оказывается более выраженной при более отри-

Таблица 1

Каналы	CFTR	CIC2	CaCC (TMEM16A)	VRAC (LRRC8)
лиганд-управляемость	нет	нет	нет	нет
электронейтральность	нет	нет	нет	нет
избирательность	ионы галогенов	ионы галогенов	ионы галогенов	ионы галогенов, органические осмолиты
потенциал-управляемость (гейтинг)	_	+	при [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub> <1 мкМ	_
выпрямление	Гольд-мановское	входящее	при $[Ca^{2+}]_i < 1$ мкМ выходящее	Гольд-мановское
кальций-чувствительность	_	_	+++	+
механочувствительность	—	+	+	+++
регуляция протеинкиназой А	+++	+	_	_
регуляция протеинкиназой С	+	_	_	_

Основные характеристики хлорных ионных каналов миокарда

#### 2.2. Семейство хлорных каналов CIC

Трансмембранные белки семейства CIC широко представлены у всех типов животных. У млекопитающих CIC экспрессируются в большинстве типов клеток и участвуют в поддержании анионного гомеостаза, потенциала покоя, а также в регуляции клеточного объема. Среди представителей



**Рис. 1.** Структура основных белковых комплексов, обладающих свойствами хлорных анионных каналов в миокарде. На верхних панелях показан вид канала с внеклеточной стороны в плоскости плазматической мембраны. Зеленым цветом в структуре белка показаны α-спирали, желтым цветом – β-складки, фиолетовым цветом – 3<sub>10</sub>-спираль. **А.** Структура канала CFTR и его расположение в плазматической мембране с указанием локализации АТФ-связывающих доменов и регуляторного домена (R). **Б.** Структура канала CIC-2 и его расположение в плазматической мембране с указанием локализации АТФ-связывающих доменов и регуляторного домена (R). **Б.** Структура канала CIC-2 и его расположение в плазматической мембране с указанием ионных пор, формируемых каждой из субъединиц канала (P1 и P2). **В.** Структура канала TMEM16A и его расположение в плазматической мембране с указанием ионных пор, формируемых каждой из субъединиц канала (P1 и P2), кальций-связывающего «кармана» канала (Ca<sup>2+</sup>) и потенциал-чувствительного участ-ка канала (Vm). **Г.** Структура канала LRRC8A и его расположение в плазматической мембране с указанием домена, содержащего повторы, обогащенные лейцином (LRRC). Молекулярные структуры сконструированы с помощью https://www.rcsb.org/

этого семейства можно выделить две структурно похожие, но функционально различные группы. К первой группе относятся потенциал-зависимые хлорные каналы (ClC-1, -2, -Ка и -Кb, К – kidney – «почечные»). ClC-1 (ClCN1) является самым изученным хлорным каналом. Экспрессия ClC-1, как и ClC-Ka/b, в сердце не показана. Ко второй группе (ClC-3, -4, -5, -6, -7) относятся трансмембранные белки, которые проницаемы не только для ионов хлора, но и для протонов, и, фактически, являются Cl<sup>-</sup>/H<sup>+</sup>-обменниками (антипортерами), которые в основном локализуются в мембране внутриклеточных органелл (эндосом, лизосом, везикул). Все белки семейства CIC состоят из двух идентичных субъединиц, хотя могут образовывать и гетеродимеры [15]. Каждая из субъединиц содержит 18 α-спиралей, 17 из которых являются трансмембранными. Некоторые α-спирали являются короткими и не полностью пересекают мембрану, что приводит к появлению небольших петель внутри мембраны, которые формируют внутриканальные «пути» для анионов и протонов. С-концевой фрагмент каждой субъединицы CICбелков содержит два эволюционно консервативных регуляторных CBS-домена, которые связывают цитоплазматический АТФ, АМФ и другие пуриновые нуклеотиды.



**Рис. 2.** Вольт-амперные характеристики основных хлорных (анионных) токов клеток миокарда при различных концентрациях внутриклеточного Cl<sup>-</sup> ([Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>) и внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>). На вставках представлен увеличенный участок вольтамперных характеристик с точками пересечения кривых с осью X, что соответствует равновесному хлорному потенциалу. **А.** РКА-зависимый хлорный ток, формируемый каналом CFTR. **Б.** Хлорный ток аномального выпрямления, формируемый каналом ClC-2. **В.** Ca<sup>2+</sup>-зависимый хлорный ток, формируемый каналом TMEM16A. **Г.** Объем-регулируемый хлорный ток, формируемый каналом LRRC8. Внеклеточная концентрация Cl<sup>-</sup> ([Cl<sup>-</sup>]<sub>o</sub>) составляет 110 ммоль/л. Модельные кривые построены с использованием уравнения Гольдмана-Ходжкина-Каца (ГХК) для трансмембранного ионного тока. Модельные кривые для ионных токов демонстрирующих потенциал-зависимость и/или кальций-зависимость получены перемножением ГХК на равновесную вероятность пребывания канала в открытом состоянии или коэффициент, пропорциональный [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. Диапазон, ограниченный кривыми для 10 и 40 ммоль/л [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>, соответствует возможным величинам ионного тока, потенциально достигаемым в кардиомиоцитах различных отделов сердца.

Важно, что трансмембранный перенос ионов хлора каждой субъединицей каналов ClC-семейства является кинетически независимым, так как каждая субъединица димерного канального комплекса формирует собственный структурно полноценный ионный путь (рис. 1Б). Следует отметить, что ионы хлора могут перемещаться внутри канала по двум траекториям вблизи цитоплазматической границы мембраны, поэтому ионный путь ClC не является «порой» в строгом смысле этого термина. Каналы CIC обладают несколькими типами воротного механизма, которые определяют их потенциал-зависимость. Предполагается, что имеются быстрый воротный механизм («быстрые активационные ворота»), определяющий индивидуальное состояние каждой «монопоры». а также медленный воротный механизм, влияющий на доступность пути обоих мономеров одновременно [16]. Высказано предположение о том, что быстрая потенциал-зависимая активация (быстрый воротный механизм) не связана с наличием потенциал-чувствительных сегментов в канальном комплексе [17]. Действительно, субъединицы и канальные комплексы ClC лишены сенсора потенциала с канонической структурой. Вероятно, механизмы потенциал-зависимой активации и деактивации значительно различаются для ClC-каналов разного типа (ClC-1, -2, -Ка и -Кb). Эта особенность выражается в том, что вольтамперные характеристики ClC-1, -2, -Ка и -Кb имеют различный вид.

#### 2.2.1. ClC-2

ClC-2 являются потенциал-зависимыми хлорными каналами плазматической мембраны, которые обнаруживаются в большинстве тканей млекопитающих [15]. Среди всех ClC в сердце и непосредственно в кардиомиоцитах обнаруживается высокий уровень экспрессии именно ClC-2 (рис. 1Б Приложение).

Как и другие каналы этого семейства, ClC-2 – димеры с двумя порами [18]. Для ClC-2 характерны медленные и быстрые воротные механизмы, обуславливающие потенциал-зависимость канала. Предполагается, что быстрая потенциал-зависимая активация ClC-2 обусловлена электростерическим механизмом: в тех условиях, когда V<sub>m</sub> < E<sub>CI</sub> (например, при гиперполяризации) происходит поступление внутриклеточных ионов хлора во внутренние «воротные» порообразующие области молекулы. Электростатическое отталкивание ионов хлора и поляризованного отрицательно заряженного остатка глутамата приводит к изменению положения последнего в результате разрушения одних и формирования других водородных связей («глутаматные ворота»), что делает пору доступной для перемещения анионов [16]. В тех условиях, когда  $V_m > E_C$  электрическое поле препятствует поступлению внутриклеточного Cl- в канал и преодолению электростерических глутаматных ворот. Таким образом, гиперполяризация ( $V_m < E_{Cl}$ ) приводит к активации, а деполяризация ( $V_m > E_{Cl}$ ) к деактивации канала. Электростерический воротный механизм приводит к тому, что вольтамперная характеристика для ClC отклоняется от «классической» кривой с Гольдмановским выпрямлением (рис. 2A) и приобретает вид кривой с направленным внутрь (или «аномальным», или «входящим») выпрямлением ("inward rectifying", «ir»; рис. 2Б).

В связи с особенностями воротного механизма, в нативных условиях анионный ток через каналы ClC-2 является активируемым гиперполяризацией с входящим выпрямлением (I<sub>Cl ir</sub>). Амплитуда и потенциал реверсии (E<sub>Cl</sub>) тока I<sub>Cl.ir</sub> зависят от концентрации ионов хлора по обе стороны мембраны. Повышение [Cl<sup>-</sup>], приводит к смещению ЕСІ к менее отрицательным значениям и соответственному смещению значения МП, при котором этот канал может быть активирован и проводить деполяризующий ток - входящий по направлению движения положительных зарядов, но выходящий по направлению перемещения анионов Cl<sup>-</sup> (рис. 2Б). При низкой [Cl<sup>-</sup>], ток через каналы ClC-2 приобретает сильную зависимость от внеклеточной концентрации хлора ( $[Cl^{-}]_{o}$ ).

Состояние канала ClC-2 сильно зависит от внутриклеточного рН: небольшое снижение рН (закисление цитоплазмы, повышение [H<sup>+</sup>]<sub>i</sub>) приводит к облегчению активации канала, однако при лальнейшем снижении pH канал закрывается [19]. Механизм увеличения проводимости при снижении рН заключается в том, что протоны нейтрализуют отрицательный заряд глутамата «глутаматных ворот», облегчая поступление внутриклеточного хлора в «вестибюль» канала. Кроме того, каналы ClC-2 также могут быть активированы внутриклеточной гиперволюмией [19]. Каналы ClC-2 могут быть прямой или косвенной мишенью протеинкиназ различного типа [20, 21]. Проблемой в исследовании свойств и роли ClC-2 является отсутствие их низкомолекулярных лигандов с высоким сродством и избирательностью [15].

## 2.3. Са<sup>2+</sup>-чувствительные хлорные каналы – СаСС

Как указано выше, структуры, обладающие хлорной проводимостью, потенциал-зависимостью и чувствительностью к Ca<sup>2+</sup>, обозначают как CaCC. Хлорный ионный ток, демонстрирующий потенциал- и Ca<sup>2+</sup>-чувствительность, формируемый CaCC, принято обозначать как I<sub>Cl,Ca</sub>. Ранее считалось, что молекулярной основой CaCC являются гомодимерные канальные белки, где каждый мономер состоит из 8 трансмембранных сегментов ( $\alpha$ -спиралей) [1]. Такие белки были названы аноктаминами (Ano) [22–23]. Однако в недавних исследованиях [24–26] установлено, что каждый мономер порообразующей субъединицы CaCC включает

10 трансмембранных α-спиралей. Белки такого типа ранее получили обозначение ТМЕМ16, как одно из семейств слабо похожих трансмембранных белков с неизвестной функцией, объединяемых в группу TMEM (TransMEmbrane Members). На данный момент нет никаких сомнений, что гомодимеры ТМЕМ16А (Ano1) или ТМЕМ16В (Ano2) являются молекулярными субстратами для CaCC и порообразующими субъединицами для тока I<sub>С1 Са</sub> [27]. Каждый из мономеров гомодимерного канала ТМЕМ16 имеет пору, проницаемую для ионов хлора. Таким образом, СаСС являются «двухпоровыми» каналами (рис. 1В). Каналы ТМЕМ16А/В широко экспрессируются в кардиомиоцитах мышей, собак, [28], кроликов [29] и свиней [30]. Уровень экспрессии ТМЕМ16 в миокарде человека, в отличие от других млекопитающих, невысок (рис. 1В Приложение) [31].

Проводимость каналов ТМЕМ16А, экспрессируемых в гетерологических системах, увеличивается при деполяризации, но снижается при гиперполяризации, поэтому ток I<sub>Cl,Ca</sub> демонстрирует свойства тока *выходящего* выпрямления (рис. 2В) [32]. Однако основной особенностью CaCC/TMEM16А является регуляция его проводимости цитозольным Ca<sup>2+</sup> [33].

Каждый из димеров канала CaCC/TMEM16A может связывать два иона Ca<sup>2+</sup>. Связывание, повидимому, происходит кооперативно [34–35]. Однако в структуре TMEM16A не обнаружено канонических Ca<sup>2+</sup>-связывающих мотивов. Предполагается, что последовательность аминокислот в первой внутриклеточной петле образует «кальциевый карман» (рис. 1В), характерный, например, для Ca<sup>2+</sup>-активируемых калиевых каналов большой проводимости (BK, Big Potassium) [1]. Отрицательно заряженные остатки аминокислот «кальциевого кармана» TMEM16A обращены в «просвет» проводящей поры [36].

Считается, что потенциал-чувствительность СаСС/ТМЕМ16А обусловлена прямым потенциал-зависимым связыванием Ca<sup>2+</sup> отрицательно аминокислотными заряженными остатками «кальциевого кармана» [24-25]: чем более положительнее потенциал, тем более эффективно ионы Ca<sup>2+</sup> проникают из цитоплазмы в Ca<sup>2+</sup>-связывающий карман, нейтрализуя негативный электростатический заряд в поре и делая ее доступной для ионов хлора. Кроме того, чем выше  $[Ca^{2+}]_i$ , тем больше каналов ТМЕМ16А будет активировано. Таким образом, потенциал-чувствительность и зависимость от [Ca<sup>2+</sup>], для CaCC/TMEM16A являются связанными характеристиками. Повышение [Ca<sup>2+</sup>], приводит к увеличению как входящей, так выходящей компоненты тока через CaCC/TMEM16A (рис. 2В).

Тем не менее,  $I_{Cl,Ca}$  при низкой (базальной, <0,1 мкМ)  $[Ca^{2+}]_i$ , соответствующей состоянию покоя клетки, также может быть потенциал-зави-

симо активирован [37]. Считается, что потенциалзависимость CaCC/TMEM16А при нулевой или очень низкой [Ca<sup>2+</sup>]<sub>і</sub> обусловлена либо наличием у канала отдельного «неканонического» Ca<sup>2+</sup>-независимого сенсора потенциала (рис. 1В), либо – потенциал-зависимым протонированием аминокислотных остатков Ca<sup>2+</sup>-связывающего кармана и других цитоплазматических участков молекулы [38]. Закисление цитоплазмы приводит к увеличению вероятности пребывания ТМЕМ16А в открытом состоянии и увеличению I<sub>Cl.Ca</sub> при всех значениях МП [39]. Помимо прочего, проводимость ТМЕМ16А и величина I<sub>Cl,Ca</sub> зависит от [Cl<sup>-</sup>]<sub>0</sub>. В итоге, механизм активации каналов ТМЕМ16А крайне сложен, поскольку определяется  $[Ca^{2+}]_{i}$ , мембранным потенциалом, внутриклеточным рН и [Cl<sup>-</sup>]<sub>о</sub>; канал CaCC/TMEM16А нельзя, в строгом смысле, определить как потенциал-управляемый. В свою очередь, наличие потенциал-чувствительности при нулевой [Ca<sup>2+</sup>], не позволяет рассматривать канал и как лиганд-управляемый.

Установлено, что активация CaCC/TMEM16A происходит за счет Ca<sup>2+</sup>, поступающего через потенциал-зависимые кальциевые каналы, неселективные катионные каналы, а также при высвобождении Ca<sup>2+</sup> из саркоплазматического ретикулума [40]. TMEM16B менее чувствителен к Ca<sup>2+</sup>, чем TMEM16A, а кинетика Ca<sup>2+</sup>-зависимой активации и деактивации TMEM16B намного быстрее, чем у TMEM16A [22, 41]. Следует отметить, что после активации кальцием для TMEM16A/B не наблюдается инактивации канала со временем.

СаСС/ТМЕМ16А является мишенью целого ряда внутриклеточных сигнальных молекул и киназ [37]. Комплекс Са<sup>2+</sup>/кальмодулин активирует ТМЕМ16А [42–43]. Как и в случае со многими другими каналами, фосфолипиды (фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат) и производные холестерина [44] оказывают существенное влияние на способность СаСС/ТМЕМ16А к активации [45]. В некоторых работах выявлена чувствительность ТМЕМ16А к механическим стимулам [46]. Для СаСС/ТМЕМ16А показана активация, опосредованная G-белок сопряженными рецепторами (GPCR) [33, 35].

Показано, что классические блокаторы анионной проводимости – DIDS (4,4'-diisothiocyanatostilbene-2,2'-disulfonic acid), NPPB (5-nitro-2-(3-phenylpropylamino) benzoic acid) и 9-AC (9-anthracene carboxylic acid) [1] обладают блокирующим действием относительно СаСС/ТМЕМ16. В ряде исследований показано, что такие соединения как T16inh-A0, CaCCinh-A01, бензбромарон, дихлорфен гексахлорфен И могут быть блокаторами ТМЕМ16А [47, 49]. Предполагается, что высокоселективным ингибитором ТМЕМ16А является N-((4-метокси)-2-нафтил)-5-нитроантраниловая кислота (MONNA) [50].

# 2.4. Хлорные каналы, регулируемые внутриклеточным объемом (VRAC), – LRRC8х

Молекулярный субстрат для трансмембранной анионной проводимости, регулируемой объемом, долгое время не был установлен. В литературе имеется множество вариантов обозначения предполагаемых «объем-чувствительных» каналов, например, VSOR (чувствительные к объему каналы выходящего выпрямления), VSOAC (чувствительные к объему каналы анионов/органических осмолитов) или VRAC (регулируемые объемом анионные каналы), которые представляют собой гомо- или гетерогексамеры, сформировантрансмембранными белками ные семейства LRRC8.

Гетерогексамеры LRRC8 могут включать мономеры пяти разных типов: LRRC8А...Е [51]. Все LRRC8 имеют трансмембранный порообразующий домен, который состоит минимум из четырех трансмембранных α-спиралей и в высокой степени гомологичен трансмембранному домену коннексинов и иннексинов. Предполагается, что

филогения LRRC8 связана с паннексинами и другими белками щелевых контактов [52]. Помимо трансмембранного домена, каждая молекула белка LRRC8 имеет внеклеточный домен и внутриклеточный, С-концевой домен, богатый лейциновыми повторами (LRR) с характерной третичной структурой (рис. 1Г) [53]. Биофизические свойства каналов-гексамеров зависят от их субъединичного состава [54–55].

Белок LRRC8A, также известный как Swell1, является обязательной субъединицей гексамерного канала VRAC/LRRC8 [56–57]. Функциональный канал представляет собой гетеромер, включающий LRRC8A и любые другие мономеры (LRRC8B, C, D или E) [15]. Подавление экспрессии LRRC8A приводит к уменьшению активируемого гиперволюмией хлорного тока (I<sub>Cl,vol</sub>), однако элиминация любой другой из субъединиц не влияет на этот ток [57–58].

Установлено, что VRAC/LRRC8 экспрессируются во всех типах клеток позвоночных животных, в том числе и в кардиомиоцитах (рис. 1Г Приложение). Показано, что в сердце в наибольшей степени экспрессируется LRRC8C [59]. Кардиомиоциты человека экспрессируют LRRC8A, LRRC8B, LRRC8C и LRRC8E.

Считается, что эти каналы играют ключевую роль в поддержании клеточного объема [51]. Проводимость вышеуказанных каналов увеличивается в ответ на гиперволюмию и (гипо)осмотический стресс, что способствует возвращению клеток к исходному объему и исходной осмолярности за счет регулируемого выхода из цитоплазмы ионов галогенов и отрицательно заряженных органических осмолитов. Считается, что восстановление клеточного объема реализуется за счет пассивного трансмембранного, направленного наружу перемещения молекул воды, происходящего вслед за активацией VRAC/LRRC8 [52].

Хлорный анионный ток через каналы VRAC/LRRC8, обозначаемый как  $I_{Cl,vol}$  или  $I_{Cl,swell}$ , имеет входящую и выходящую компоненту и демонстрирует свойства выходящего выпрямления, близкого к Гольдмановскому (рис. 2Г). Для  $I_{Cl,vol}$  характерна инактивация со временем, наблюдаемая при положительных значениях МП. Выраженность этой инактивации зависит от типа белков LRRC, формирующих ионный канал [51]. Анионная избирательность VRAC/LRRC8 обусловлена высоким положительным электростатическим зарядом проводящего пути канала.

Проводимость VRAC/LRRC8 зависит от концентрации внутриклеточного ATФ, pH цитоплазмы, а также от  $[Ca^{2+}]_i$  [61–62]. Повышение  $[Ca^{2+}]_i$ способствует увеличению проводимости VRAC при всех значениях МП (рис. 2Г). При снижении pH от 7,4 до 6 проводимость увеличивается, однако дальнейшее снижение pH подавляет VRAC/LRRC8.

VRAC/LRRC8 являются мишенью киназ, сопряженных с GPCR [63]. Фосфорилирование киназами РКС $\alpha$  и РКС $\beta$  усиливает активацию VRAC/LRRC8 каналов внутриклеточным АТФ [64]. Проводимость VRAC/LRRC8 модулируется пуриновыми рецепторами P<sub>2</sub>Y<sub>2</sub>-типа [65]. Также известно, что ингибирование киназы легких цепей миозина подавляет проводимость, а ингибирование фосфатазы легких цепей миозина увеличивает проводимость VRAC/LRRC8 [51]. Кроме того, ингибирование Rho/Rho-киназного пути приводит к нарушению активации VRAC/LRRC8 вплоть до их полного подавления проводимости [66].

#### 3. Транспортеры и обменники хлора

Наряду с хлорными каналами в сердце широко представлены хлорные трансмембранные АТФ-независимые переносчики и обменники, которые определяют [Cl-]<sub>i</sub> и, соответственно, E<sub>Cl</sub>, оказывая влияние на электрофизиологические характеристики миокарда (табл. 2). В настоящее время известно множество хлор-катионных и хлор-анионных трансмембранных переносчиков, которые могут быть как электронейтральными, так и электрогенными. Ключевую роль среди хлор-катионных котранспортеров (или симпортеров) в сердце играют NKCC и КСС, относящиеся к крупной группе трансмембранных молекул SLC12 (SoLute Carrier) [67]. Среди хлор-анионных транспортеров в сердце важны хлор-бикарбонатные антипортеры или иначе СІ-/НСО3--обменники [68], являющиеся членами семейств SLC4 или SLC26 [15].

#### 3.1. Котранспортеры катионов и хлора

Котранспортеры катионов и хлора (ССС – Cation Chloride Cotransporter) обеспечивают трансмембранный электронейтральный симпорт СІ<sup>-</sup> и К<sup>+</sup> или Na<sup>+</sup>. Семейство SLC12 включает

единственный котранспортер SLC12A3, переносящий один Na<sup>+</sup> и один Cl<sup>-</sup> (NCC), два котранспортера (SLC12A2 – NKCC1 и SLC12A1 – NKCC2), которые осуществляют одновременный (однонаправленный) перенос Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и двух Cl<sup>-</sup> (NKCC), а также четыре котранспортера, осуществляющие однонаправленный перенос K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> (КСС, SLC12A4 – KCC1, SLC12A5 – KCC2, SLC12A6 – KCC3, SLC12A7 – KCC4) [69]. Структура всех ССС (SLC12) сходна – мономер котраспортера включает 12 трансмембранных  $\alpha$ -спиралей и крупные внутриклеточные N- и C-концевые до-

мены [70] (рис. 3). Все котранспортеры этого семейства, за исключением КСС4, являются димерами [67, 71].

Активность ССС находится под тесным контролем со стороны множества регуляторных факторов, например, агонистов GPCR. Более того, полученные к настоящему времени данные указывают на тканеспецифичный характер регуляции ССС со стороны рецепторов и их внутриклеточных сигнальных каскадов [72, 73]. Например, в изолированных гладкомышечных клетках аорты крысы увеличение концентрации цАМФ при стимуляции

Таблица 2

Основные ларактернетики котранспортеров и обленников люра в мнокарде							
	Котрас	портеры	Обменники				
Транспортеры	NKCC1	KCC1	НСО <sub>3</sub> -/СІ-обменник				
	SLC12A2	SLC12A4	SLC4A	SLC26A			
Стехиометрия	1Na <sup>+</sup> :1K <sup>+</sup> :2Cl <sup>-</sup> (все ионы внутрь)	1К <sup>+</sup> :1СІ <sup>-</sup> (все ионы наружу)	1HCO <sub>3</sub> -(наружу): 1Cl-(внутрь)	nHCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (наружу):1Cl <sup>-</sup> (внутрь) или 1HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (наружу):2Cl <sup>-</sup> (внутрь) или 1HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (наружу):1Cl <sup>-</sup> (внутрь)			
Электронейтральность	+	+	+	+/			
Потенциал-зависимость	+	+	_	_			
Механочувствительность	активация при умень- шении объема клетки	активация при увеличе- нии объема клетки	_	_			
Зависимость от [cl <sup>-</sup> ] <sub>i</sub>	повышение [Cl <sup>-</sup> ] <sub>i</sub> подавляет NKCC	повышение [Cl <sup>-</sup> ] <sub>i</sub> подавляет КСС	_	_			

Основные узрактеристики котранспортеров и обменников удора в мискарле



КСС (SLC12A) семейство SLC - белки-переносчики растворенных веществ

NKCC1 (SLC12A)

инактивированный NKCC1

субъединица 2

Рис. 3. Структура хлорных трансмембранных котранспортеров (симпортеров). На верхних панелях показан вид транспортеров с внеклеточной стороны в плоскости плазматической мембраны. Зеленым цветом в структуре белка показаны α-спирали, желтым цветом – β-складки, фиолетовым цветом – З<sub>10</sub>-спираль. А. Структура котранспортера катионов калия и анионов хлора (КСС) семейства SLC12A с указанием пор или анионных проводящих путей, формируемых каждой субъединицей димера (Р1 и Р2).
Б. Структура котранспортера катионов калия, натрия и анионов хлора (NKCC1) семейства SLC12A с указанием пор или анионных проводящих путей, формируемых каждой субъединицей димера (Р1 и Р2).
Б. Структура котранспортера катионов калия, натрия и анионов хлора (NKCC1) семейства SLC12A с указанием пор или анионных проводящих путей, формируемых каждой субъединицей димера (Р1 и Р2).
Б. Структура котранспортера катионов калия, натрия и анионов хлора (NKCC1) семейства SLC12A с указанием пор или анионных проводящих путей, формируемых каждой субъединицей димера (Р1 и Р2).
Б. Структура котранспортера катионов калия, натрия и анионов хлора (NKCC1) семейства SLC12A с указанием пор или анионных проводящих путей, формируемых каждой субъединицей димера (Р1 и Р2).
В. Взаиморасположение субъединиц инактивированного транспортера NKCC1. Молекулярные структуры сконструированы с помощью https://www.rcsb.org/

 $\beta$ -адренорецепторов и аденилатциклазы (АЦ) вызывает подавление активности NKCC1, тогда как повышение [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> увеличивает его активность [74–75]. В то же время, повышение внутриклеточной концентрации цГМФ в гладкомышечных клетках не оказывает влияния на NKCC1, но повышает активность КСС [76].

Котранспортеры семейства ССС имеют сайты фосфорилирования для протеинкиназ различного типа. [77] Действительно, фосфорилирование серин-треониновыми киназами семейства WNK влияет на активность ССС [67]. Фосфорилирование NKCC1-2 и NCC киназами семейства WNK приводит к увеличению активности этих переносчиков. В свою очередь, фосфорилирование КСС 1—4 этими киназами приводит к подавлению активности транспортеров [78]. Таким образом, регуляция активности NKCC и КСС является реципрокной. Парадоксально, но в целом ряде работ установлено, что «классические» серин-треониновые киназы – РКА и РКС не оказывают влияния на NKCC и КСС [77].

Изменение клеточного объема влияет на активность ССС. Уменьшение объема клетки («сжатие»), снижение натяжения клеточной мембраны, например, при увеличении осмолярности внешней среды, приводит к активации NKCC, но подавляет КСС. Увеличение проводимости NKCC в таких условиях приводит к поступлению Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> в цитоплазму, увеличению концентрации внутриклеточных осмолитов и восстановлению объема клетки при действии гиперосмотического шока.

Наоборот, увеличение объема клетки, например, в результате уменьшения осмолярности внеклеточной среды, набухание клетки и растяжение мембраны приводит к увеличению проводимости КСС, в результате чего  $[K^+]_i$  и  $[Cl^-]_i$  снижается, а действие гипоосмотического шока на клетку ослабляется и происходит восстановление объема клетки [78, 79].

Таким образом, как и каналы VRAC/LRRC8, котранспортеры КСС, NKCC принимают участие в регуляции объема, поддержании ионного и осмотического гомеостаза клеток. Котранспортеры NKCC и КСС, таким образом, являются важным элементом системы регуляции клеточного объема. КСС и NKCC работают реципрокно — действие NKCC обратно эффектам КСС. За счет регуляции объема КСС и NKCC участвуют в регуляции клеточной пролиферации [78]. Следует отметить, что активность ССС зависит от [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>. Например, повышение [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> подавляет NKCC, но стимулирует КСС [80].

Фармакология ССС хорошо развита, поскольку эти котранспортеры являются мишенями «петлевых диуретиков» — соединений, применяемых в терапии артериальной гипертензии. Наиболее известным петлевым диуретиком является фуросемид, который, наряду с другими мишенями, блокирует работу NKCC2 в проксимальных извитых канальцах, подавляя реабсорбцию натрия и стимулируя выведение воды [81–82].

# 3.1.1. Котранспортеры $K^+$ и $Cl^- - KCC$

Котранспортеры КСС опосредуют электронейтральный Na<sup>+</sup>-независимый перенос ионов K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> через плазматическую мембрану. КСС обнаружен практически во всех тканях — эпителии, нейронах и других клетках мозга, почках, скелетных мышцах и сердце (рис. 2А Приложение) [83].

Транскрипты всех четырех типов переносчиков КСС обнаруживаются в сердце, однако только КСС1, КСС3 и КСС4 экспрессируются на уровне белка [79, 84]. Транскриптомный анализ одиночных клеток, выделенных из различных отделов сердца человека (левое и правое предсердие, левый и правый желудочек, верхушка желудочка, межжелудочковая перегородка), позволяет заключить [67], что повсеместно экспрессируемым транспортером почти во всех типах клеток сердечной ткани является КСС1, в то время как КСС3 и КСС4 обнаруживаются только в желудочковых кардиомиоцитах. Таким образом, удаление Cl- из кардиомиоцитов преимущественно реализуется изоформой КСС1, как и в большинстве клеток и тканей организма млекопитающих животных. Тем не менее, профиль экспрессии КСС является видоспецифичным. Уровень транскриптов КСС2 в сердце человека крайне низок [85-86]. Однако КСС2 обнаруживается в желудочковых кардиомионитах сердна курицы, где, вероятно, способствует снижению  $[Cl^{-}]_{i}$  при стимуляции β-адренорецепторов [87].

# 3.1.2. Котранспортеры $K^+$ , $Na^+ u Cl^- - NKCC$

Котранспортеры NKCC опосредуют электронейтральный перенос ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и двух Cl<sup>-</sup> через плазматическую мембрану. Котранспортеры NKCC экспрессируются повсеместно [67].

В норме NKCC1 обнаруживается во всех областях сердца как на уровне мРНК, так и на уровне белка [84, 86]. К настоящему времени подтверждения экспрессии «почечной» изоформы NKCC2 (SLC12A1) в сердце отсутствуют [70]. Как и в случае с КСС, перенос СІ<sup>-</sup> в кардиомиоциты осуществляется повсеместно экспрессируемой изоформой NKCC, то есть NKCC1 (рис. 2Б Приложение).

Транспортеры КСС и NKCC связаны не только функционально, но и на уровне регуляции экспрессии их генов: у мышей, нокаутных по КССЗ, наблюдается снижение экспрессии NKCC1. Реципрокное ослабление экспрессии NKCC у КССнокаутов, видимо, способствует компенсаторному снижению [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>. Однако компенсация, видимо, происходит не полностью, так как у КСС-нокаутов наблюдаются ряд патологических изменений в сердечно-сосудистой системе, включая гипертрофические изменения миокарда [88].

#### 3.2. Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-обменники

Хлор-бикарбонатные обменники сердца относятся к двум различным семействам: SLC4A и SLC26A. Семейство SLC4A включает в себя Na<sup>+</sup>-зависимые Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-обменники (NDCBE и NCBE) и Na<sup>+</sup>-независимые Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-обменники (AE1 (SLC4A1), AE2 (SLC4A2) и AE3 (SLC4A3)). Семейство SLC26A включает в себя пять различных Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-обменников (SLC26A3, пендрин, SLC26A6, SLC26A7 и SLC26A9). На данный момент в сердце показана экспрессия электронейтральных обменников АЕ1-3, а также обменников SLC26A3 и SLC26A6 [68, 89]. Однако сведения о том, какой обменник является в сердце основным, противоречивы. Вероятно, профиль экспрессии вышеперечисленных обменников видоспецифичен, различается в определенных отделах сердца и меняется в ходе онтогенеза. Например, экспрессия АЕ1 в сердце мышей сильно снижается в ходе пренатального онтогенеза [89].

Обменники AE1-3 (SLC4A1-3) являются гомодимерами, мономер которых состоит из трех доменов: цитоплазматического N-концевого домена, трансмембранного домена и цитоплазматического С-концевого домена (рис. 4А). Наиболее известным и изученным Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-обменником является SLC4A1 (AE1, Band 3) – хлор-бикарбонатный обменник плазматической мембраны эритроцитов. В зрелом миокарде AE3 практически не обнаруживается.

Обменник AE2 экспрессируется в большинстве тканей. Экспрессия АЕ2 в сердце довольно низкая, а его наличие в кардиомиоцитах на данный момент остается неподтвержденным [68]. АЕЗ считается Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-обменником возбудимых тканей, поскольку он экспрессируется только в сердце, мозге и сетчатке (рис. 2А Приложение) [90]. В нескольких работах показано, что уровень мРНК АЕЗ (SLC4АЗ) в сердце достаточно высок [91]. Таким образом, АЕЗ является основным электронейтральным хлор-бикарбонатным обменником в сердце и локализуется в основном в плазматической мембране, формирующей Т-трубочки. Интересно, что в кардиомиоцитах, помимо присутствия АЕЗ в плазматической мембране, показано наличие данного обменника в мембране цистерн саркоплазматического ретикулума [92].

Хлор-бикарбонатные обменники SLC26A также являются димерами, каждый мономер которого включает 10–14 трансмембранных сегментов [93] (рис. 4Б). По разным литературным данным, обменники SLC26A кардиомиоцитов (рис. 2Г Приложение) могут быть либо электрогенными (со стехиометрией 2HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>:1Cl<sup>-</sup>), либо электронейтральными [94]. Так же как и AE3, SLC26A [89] обнаруживается в мембране T-трубочек и саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов [92]. За счет способности перемещать анионы либо в клетку, либо из клетки основной функцией Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-обменников является регуляция цитоплазматического pH [95].



**Рис. 4.** Структура хлор-бикарбонатных трансмембранных обменников (антипортеров). На верхних панелях показан вид обменников с внеклеточной стороны в плоскости плазматической мембраны. Зеленым цветом в структуре белка показаны α-спирали, желтым цветом – β-складки, фиолетовым цветом – 3<sub>10</sub>-спираль. **А.** Структура натрий-независимого хлор-бикарбонатного обменника AE1 (SLC4A1) и его расположение в плазматической мембране. **Б.** Структура хлор-бикарбонатного обменника SLC26A6 и его расположение в плазматической мембране. Молекулярные структуры сконструированы с помощью https://www.rcsb.org/

#### 4. Заключение

Хлорные каналы семейств CIC, TMEM16, CFTR, LRRC8 являются молекулярным субстратом хлорных ионных токов, обнаруженных в сердце. Вследствие множественности и сложности регуляции хлорная проводимость оказывает комплексное влияние на электрическую активность сердца, зачастую разнонаправленное для разных его отделов. Тем не менее, хлорные каналы и хлорные переносчики принципиально важны для нормального функционирования пейсмекера, проводящей системы и сократительного миокарда сердца. Несмотря на целый спектр установленных эффектов, в значительной степени роль баланса хлора и хлорной проводимости в электрофизиологии сердца

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Duran C., Thompson C.H., Xiao Q., Hartzell H.C. Chloride channels: often enigmatic, rarely predictable. *Annu. Rev. Physiol.* 2009;72:95–121.

2. Miller A.N., Vaisey G., Long S.B. Molecular mechanisms of gating in the calcium-activated chloride channel bestrophin. *Elife*. 2019;8: e43231.

3. Li B., Hoel C.M., Brohawn S.G. Structures of tweety homolog proteins TTYH2 and TTYH3 reveal a  $Ca^{2+}$ -dependent switch from intra- to intermembrane dimerization. *Nat. Commun.* 2021;12(1):6913.

4. 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;12: 805148.

5. Locher K.P. Mechanistic diversity in ATP-binding cassette (ABC) transporters. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2016;23(6):487–493.

6. Csanády L., Vergani P., Gadsby D.C. Structure, gating, and regulation of the CFTR anion channel. *Physiol. Rev.* 2019;99(1):707–738.

7. Tabcharani J.A., Rommens J.M., Hou Y.X., Chang X.B., Tsui L.C., Riordan J.R., Hanrahan J.W. Multiion pore behaviour in the CFTR chloride channel. *Nature*. 1993;366(6450):79–82.

8. Berger H.A., Anderson M.P., Gregory R.J., Thompson S., Howard P.W., Maurer R.A., Mulligan R., Smith A.E., Welsh M.J. Identification and regulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-generated chloride channel. *J. Clin. Invest.* 1991;88(4):1422–1431.

9. Anderson M.P., Berger H.A., Rich D.P., Gregory R.J., Smith A.E., Welsh M.J. Nucleoside triphosphates are required to open the CFTR chloride channel. *Cell*. 1991;67(4):775–784.

10. Jia Y., Mathews C.J., Hanrahan J.W. Phosphorylation by protein kinase C is required for acute activation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator by protein kinase A. J. Biol. Chem. 1997;272(8):4978–4984.

11. Hallows K.R., Raghuram V., Kemp B.E., Witters L.A., Foskett J.K. Inhibition of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator by novel interaction with the metabolic sensor AMP-activated protein kinase. *J. Clin. Invest.* 2000;105(12):1711–1721.

12. Billet A., Jia Y., Jensen T., Riordan J.R., Hanrahan J.W. Regulation of the cystic fibrosis transmembrane

остается неисследованной. В частности, необходимо прояснение вопроса об уровне цитоплазматического Cl<sup>-</sup> в кардиомиоцитах проводящей системы сердца. Критически важным является идентификация профиля экспрессии хлорных ионных каналов при сердечных патологиях различного типа, поскольку это позволит установить новые аспекты электрического ремоделирования миокарда и определить новые мишени для фармакологической терапии нарушений ритма сердца.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект №22-15-00189). Работа проведена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

conductance regulator anion channel by tyrosine phosphorylation. *FASEB J*. 2015;29(9):3945–3956.

13. Luo J., Pato M.D., Riordan J.R., Hanrahan J.W. Differential regulation of single CFTR channels by PP2C, PP2A, and other phosphatases. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1998;274(5):C1397–C1410.

14. Uramoto H., Takahashi N., Dutta A.K., Sabirov R.Z., Ando-Akatsuka Y., Morishima S., Okada Y. Ischemia-induced enhancement of CFTR expression on the plasma membrane in neonatal rat ventricular myocytes. *Jpn. J. Physiol.* 2003;53(5):357–365.

15. Jentsch T.J., Pusch M. CLC chloride channels and transporters: Structure, function, physiology, and disease. *Physiol. Rev.* 2018;98(3):1493–1590.

16. Okamoto Y., Nagasawa Y., Obara Y., Ishii K., Takagi D., Ono K. Molecular identification of HSPA8 as an accessory protein of a hyperpolarization-activated chloride channel from rat pulmonary vein cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.* 2019;294(44):16049–16061.

17. De Jesús-Pérez J.J., Castro-Chong A., Shieh R.C., Hernández-Carballo C.Y. Gating the glutamate gate of CLC-2 chloride channel by pore occupancy. *J. Gen. Physiol.* 2016;147:576–613.

18. Weinreich F., Jentsch T.J. Pores formed by single subunits in mixed dimers of different CLC chloride channels. *J. Biol. Chem.* 2001;276(4):2347–2353.

19. Arreola J., Begenisich T., Melvin J.E. Conformation-dependent regulation of inward rectifier chloride channel gating by extracellular protons. *J. Physiol.* 2002;541(1):103–112.

20. Palmada M., Dieter M., Boehmer C., Waldegger S., Lang F. Serum and glucocorticoid inducible kinases functionally regulate CIC-2 channels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004;321(4):1001–1006.

21. Park K., Begenisich T., Melvin J.E. Protein kinase A activation phosphorylates the rat ClC-2 Cl<sup>-</sup> channel but does not change activity. *J. Membr. Biol.* 2001;182(1):31–37.

22. Caputo A., Caci E., Ferrera L., Pedemonte N., Barsanti C., Sondo E., Pfeffer U., Ravazzolo R., Zegarra-Moran O., Galietta L.J.V. TMEM16A, a membrane protein associated with calcium-dependent chloride channel activity. *Science*. 2008;322(5901):590–594.

23. Yannoukakos D., Stuart-Tilley A., Fernandez H.A., Fey P., Duyk G., Alper S.L. Molecular cloning, expression,

and chromosomal localization of two isoforms of the AE3 anion exchanger from human heart. *Circ. Res.* 1994;75(4):603–614.

24. Dang S., Feng S., Tien J., et al. Cryo-EM structures of the TMEM16A calciumactivated chloride channel. *Nature*. 2017;552(7685):426–429.

25. Paulino C., Kalienkova V., Lam A.K.M., Neldner Y., Dutzler R. Activation mechanism of the calcium-activated chloride channel TMEM16A revealed by cryo-EM. *Nature*. 2017;552(7685):421–425.

26. Paulino C., Neldner Y., Lam A.K.M., Kalienkova V., Brunner J.D., Schenck S., Dutzler R. Structural basis for anion conduction in the calcium-activated chloride channel TMEM16A. *eLife*. 2017;6:e26232.

27. Hartzell H.C., Yu K., Xiao Q., Chien L.T., Qu Z. Anoctamin/TMEM16 family members are Ca<sup>2+</sup>-activated Cl<sup>-</sup> channels. *J. Physiol.* 2009;587(Pt. 10):2127–2139.

28. Horváth B., Váczi K., Hegyi B., Gönczi M., Dienes B., Kistamás K., Bányász T., Magyar J. Sarcolemmal Ca<sup>2+</sup>-entry through L-type Ca<sup>2+</sup> channels controls the profile of Ca<sup>2+</sup>-activated Cl<sup>-</sup> current in canine ventricular myocytes. J. Mol. Cell Cardiol. 2016;97:125–139.

29. Sipido K.R., Callewaert G., Carmeliet E.  $[Ca^{2+}]_i$  transients and  $[Ca^{2+}]_i$ -dependent chloride current in single Purkinje cells from rabbit heart. *J. Physiol.* 1993;468:641–667.

30. Li G.R., Sun H., To J., Tse H.F., Lau C.P. Demonstration of calcium-activated transient outward chloride current and delayed rectifier potassium currents in Swine atrial myocytes. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2004;36(4):495–504.

31. El Chemaly A., Norez C., Magaud C., Bescond J., Chatelier A., Fares N., Findlay I., Jayle C., Becq F., Faivre J.F., Bois P. ANO1 contributes to Angiotensin-IIactivated Ca<sup>2+</sup>-dependent Cl<sup>-</sup> current in human atrial fibroblasts. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2014;68:12–19.

32. Berg J., Yang H., Jan L.Y.  $Ca^{2+}$ -activated Clchannels at a glance. J. Cell Sci. 2012;125(Pt. 6):1367–1371.

33. Pedemonte N., Galietta L.J.V. Structure and function of tmem16 proteins (anoctamins). *Physiol. Rev.* 2014;94(2):419–459.

34. Kuruma A., Hartzell H.C. Bimodal control of a  $Ca^{2+}$ -activated Cl<sup>-</sup> channel by different  $Ca^{2+}$  signals. *J. Gen. Physiol.* 2000;115(1):59–80.

35. Yang Y.D., Cho H., Koo J.Y., Tak M.H., Cho Y., Shim W.S., Park S.P., Lee J., Lee B., Kim B.M., Raouf R., Shin Y.K., Oh U. TMEM16A confers receptor-activated calcium-dependent chloride conductance. *Nature*. 2008;455(7217):1210–1215.

36. Brunner J.D., Lim N.K., Schenck S., Duerst A., Dutzler R. X-ray structure of a calcium-activated TMEM16 lipid scramblase. *Nature*. 2014;516(7530):207–212.

37. Schulte G. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXX. The class Frizzled receptors. *Pharmacol Rev.* 2010;62(4):632–667.

38. Ma K., Wang H., Yu J., Wei M., Xiao Q. New Insights on the regulation of  $Ca^{2+}$ -activated chloride channel TMEM16A. J. Cell Physiol. 2017;232(4):707–716.

39. Chun H., Cho H., Choi J., Lee J., Kim S.M., Kim H., Oh U. Protons inhibit anoctamin 1 by competing with calcium. *Cell Calcium*. 2015;58(5):431–441.

40. Ferrera L., Caputo A., Galietta L.J.V. TMEM16A protein: A new identity for  $Ca^{2+}$ -dependent Cl<sup>-</sup> channels. *Physol.* 2010;25(6):357–363.

41. Pifferi S., Dibattista M., Menini A. TMEM16B induces chloride currents activated by calcium in mammalian cells. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2009;458(6):1023–1038. 42. Jung J., Nam J.H., Park H.W., Oh U., Yoon J.H., Lee M.G. Dynamic modulation of ANO1/TMEM16A  $HCO_3^{-}$  permeability by  $Ca^{2+}/calmodulin$ . *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2013;110(1):360–365.

43. Vocke K., Dauner K., Hahn A., Ulbrich A., Broecker J., Keller S., Frings S., Möhrlen F. Calmodulindependent activation and inactivation of anoctamin calcium-gated chloride channels. *J. Gen. Physiol.* 2013;142(4):381–404.

44. Cipriani G., Serboiu C.S., Gherghiceanu M., Simonetta Faussone-Pellegrini M., Vannucchi M.G. NK receptors, Substance P, Ano1 expression and ultrastructural features of the muscle coat in Cav-1<sup>-/-</sup> mouse ileum. *J. Cell Mol. Med.* 2011;15(11):2411–2420.

45. Pritchard H., Leblanc N., Albert A.P., Greenwood I.A. Inhibitory role of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate on TMEM16A-encoded calcium-activated chloride channels in rat pulmonary artery. *Br. J. Pharmacol.* 2014;171(18):4311–4321.

46. Bulley S., Neeb Z.P., Burris S.K., Bannister J.P., Thomas-Gatewood C.M., Jangsangthong W., Jaggar J.H. TMEM16A/ANO1 channels contribute to the myogenic response in cerebral arteries. *Circ. Res.* 2012;111(8):1027–1036.

47. Balderas E., Ateaga-Tlecuitl R., Rivera M., Gomora J.C., Darszon A. Niflumic acid blocks native and recombinant T-type channels. *J. Cell Physiol.* 2012;227(6):2542–2555.

48. De La Fuente R., Namkung W., Mills A., Verkman A.S. Small-molecule screen identifies inhibitors of a human intestinal calcium-activated chloride channel. *Mol. Pharmacol.* 2008;73(3):758–768.

49. Huang F., Zhang H., Wu M., et al. Calciumactivated chloride channel TMEM16A modulates mucin secretion and airway smooth muscle contraction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012;109 (40):16354–16359.

50. Oh S.J., Hwang S.J., Jung J., Yu K., Kim J., Choi J.Y., Hartzell H.C., Roh E.J., Lee C.J. MONNA, a potent and selective blocker for transmembrane protein with unknown function 16/anoctamin-1. *Mol. Pharmacol.* 2013;84(5):726–735.

51. Ghouli M.R., Fiacco T.A., Binder D.K. Structure-function relationships of the LRRC8 subunits and subdomains of the volume-regulated anion channel (VRAC). *Front. Cell Neurosci.* 2022;16:962714.

52. Lutter D., Ullrich F., Lueck J.C., Kempa S., Jentsch T.J. Selective transport of neurotransmitters and modulators by distinct volume-regulated LRRC8 anion channels. *J. Cell Sci.* 2017;130(6):1122–1133.

53. Jentsch T.J. VRACs and other ion channels and transporters in the regulation of cell volume and beyond. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2016;17(5):293–307.

54. Deneka D., Sawicka M., Lam A.K.M, Paulino C., Dutzler R. Structure of a volume-regulated anion channel of the LRRC8 family. *Nature*. 2018;558(7709):254–259.

55. Kasuya G., Nakane T., Yokoyama T., Jia Y, Inoue M., Watanabe K., Nakamura R., Nishizawa T., Kusakizako T., Tsutsumi A., Yanagisawa H., Dohmae N., Hattori M., Ichijo H., Yan Z., Kikkawa M., Shirouzu M., Ishitani R., Nureki O. Cryo-EM structures of the human volume-regulated anion channel LRRC8. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2018;25(9):797–804.

56. Qiu Z., Dubin A.E., Mathur J., Tu B., Reddy K., Miraglia L.J., Reinhardt J., Orth A.P., Patapoutian A. SWELL1, a plasma membrane protein, is an essential component of volume-regulated anion channel. *Cell*. 2014;157(2):447–458. 57. Voss F.K., Ullrich F., Munch J., Lazarow K., Lutte D., Mah N., Andrade-Navarro M.A., von Kries J.P., Stauber T., Jentsch T.J. Identification of LRRC8 heteromers as an essential component of the volume-regulated anion channel VRAC. *Science*. 2014;344 (6184):634–638.

58. Okada T., Islam M.R., Tsiferova N.A., Okada Y., Sabirov R.Z. Specific and essential but not sufficient roles of LRRC8A in the activity of volume-sensitive outwardly rectifying anion channel (VSOR). *Channels*. 2017;11(2):109–120.

59. Pervaiz S., Kopp A., von Kleist L., Stauber T. Absolute protein amounts and relative abundance of volume-regulated anion channel (VRAC) LRRC8 subunits in cells and tissues revealed by quantitative immunoblotting. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(23):5879

60. Egorov Y.V., Lang D., Tyan L., Turner D., Lim E., Piro Z.D., Hernandez J.J., Lodin R., Wang R., Schmuck E.G., Raval A.N., Ralphe C.J., Kamp T.J., Rosenshtraukh L.V., Glukhov A.V. Caveolae-mediated activation of mechanosensitive chloride channels in pulmonary veins triggers atrial arrhythmogenesis. *J. Am. Heart Assoc.* 2019;8(20):e012748.

61. Centeio R., Ousingsawat J., Schreiber R., Kunzelmann K.  $Ca^{2+}$  dependence of volume-regulated VRAC/LRRC8 and TMEM16A Cl<sup>-</sup> channels. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020;8:596879.

62. Liu Y., Zhang H., Men H., Du Y., Xiao Z., Zhang F., Huang D., Du X., Gamper N., Zhang H. Volume-regulated Cl<sup>-</sup> current: Contributions of distinct Cl<sup>-</sup> channels and localized Ca<sup>2+</sup> signals. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2019;317(3):C466–C480.

63. Nilius B., Eggermont J., Voets T., Buyse G., Manolopoulos V., Droogmans G. Properties of volume-regulated anion channels in mammalian cells. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1997;68(1):69–119.

64. Rudkouskaya A., Chernoguz A., Haskew-Layton R.E., Mongin A.A. Two conventional protein kinase C isoforms,  $\alpha$  and  $\beta$ I, are involved in the ATP-induced activation of volume-regulated anion channel and glutamate release in cultured astrocytes. *J. Neurochem.* 2008;105(6):2260–2270.

65. Fisher S.K., Cheema T.A., Foster D.J., Heacock A.M. Volume-dependent osmolyte efflux from neural tissues: Regulation by G-protein-coupled receptors. *J. Neurochem.* 2008;106(5):1998–2014.

66. Nilius B., Voets T., Prenen J., Barth H., Aktories K., Kaibuchi K., Droogmans G., Eggermont J. Role of Rho and Rho kinase in the activation of volume-regulated anion channels in bovine endothelial cells. *J. Physiol.* 1999;516(Pt. 1):67–74.

67. 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;125(4):152045.

68. Wang H.S. Critical role of bicarbonate and bicarbonate transporters in cardiac function. *World J. Biol. Chem.* 2014;5(3):334.

69. Meor Azlan N.F., Zhang J. Role of the cationchloride-cotransporters in cardiovascular disease. *Cells*. 2020;9(10):2293.

70. Hartmann A.M., Nothwang H.G. Molecular and evolutionary insights into the structural organization of cation chloride cotransporters. *Front. Cell Neurosci.* 2015;8:470.

71. Nan J., Yuan Y., Yang X., Shan Z., Liu H., Wei F., Zhang W., Zhang Y. Cryo-EM structure of the human sodium-chloride cotransporter NCC. *Sci. Adv.* 2022;8(45):eadd7176.

73. Lang F., Voelkl J. Therapeutic potential of serum and glucocorticoid inducible kinase inhibition. *Expert Opin*. *Investig. Drugs.* 2013;22(6):701–714.

74. Orlov S.N., Tremblay J., Hamet P. Cell volume in vascular smooth muscle is regulated by bumetanide-sensitive ion transport. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1996;270(5 Pt. 1):C1388-C1397.

75. Smith J.B., Smith L. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> cotransport in cultured vascular smooth muscle cells: Stimulation by angiotensin II and calcium ionophores, inhibition by cyclic AMP and calmodulin antagonists. *J. Membr. Biol.* 1987;99(1):51–63.

76. Adragna N.C., White R.E., Orlov S.N., Lauf P.K. K-Cl cotransport in vascular smooth muscle and erythrocytes: Possible implication in vasodilation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2000;278(2):C381–C390.

77. Kahle K.T., Rinehart J., Ring A., Gimenez I., Gamba G., Hebert S.C., Lifton R.P. WNK protein kinases modulate cellular Cl<sup>-</sup> flux by altering the phosphorylation state of the Na-K-Cl and K-Cl cotransporters. *Physiology* (*Bethesda*). 2006;21:326–335.

78. 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. *Biochemistry (Mosc.)*. 2014;79(13):1546–1561.

79. Mount D.B., Mercado A., Song L., Xu J., George A.L., Jr., Delpire E., Gamba G. Cloning and characterization of KCC3 and KCC4, new members of the cation-chloride cotransporter gene family. *J. Biol. Chem.* 1999;274(23):16355–16362.

80. Lytle C., McManus T. Coordinate modulation of Na-K-2Cl cotransport and K-Cl cotransport by cell volume and chloride. *Am. J. Physiol Cell Physiol.* 2002;283(5):C1422–C1431.

81. Delpire E. Advances in the development of novel compounds targeting cation-chloride cotransporter physiology. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2021;320(3):C324–C340.

82. Gagnon M., Bergeron M.J., Lavertu G., et al. Chloride extrusion enhancers as novel therapeutics for neurological diseases. *Nat. Med.* 2013;19(11):1524–1528.

83. Garneau A.P., Marcoux A.A., Slimani S., Tremblay L.E., Frenette-Cotton R., Mac-Way F., Isenring P. Physiological roles and molecular mechanisms of  $K^+ - Cl^-$  cotransport in the mammalian kidney and cardiovascular system: where are we? *J. Physiol.* 2019;597(6):1451–1465.

84. Uhlen M., Uhlén M., Fagerberg L., et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 2015;347(6220):1260419.

85. Karlsson M., Zhang C., Méar L., et al. A single– cell type transcriptomics map of human tissues. *Sci. Adv.* 2021;7(31):eabh2169.

86. Litviňuková M., Talavera-López C., Maatz H., et al. Cells of the adult human heart. *Nature*. 2020;588(7838):466–472.

87. Ludwig A., Rivera C., Uvarov P. A noninvasive optical approach for assessing chloride extrusion activity of the K-Cl cotransporter KCC2 in neuronal cells. *BMC Neurosci.* 2017;18(1):23.

88. Garneau A.P., Marcoux A.A., Noël M., Frenette-Cotton R., Drolet M.C., Couet J., Larivière R., Isenring P. Ablation of potassium-chloride cotransporter type 3 (Kcc3) in mouse causes multiple cardiovascular defects and isosmotic polyuria. *PLoS One.* 2016;11(5):e0154398.

89. Alvarez B.V., Kieller D.M., Quon A.L., Markovich D., Casey J.R. Slc26a6: A cardiac chloride-hydroxyl exchanger and predominant chloride-bicarbonate exchanger of the mouse heart. *J. Physiol.* 2004;561(Pt. 3):721–734.

90. Bonar P.T., Casey J.R. Plasma membrane Cl<sup>-</sup>/ HCO<sup>3-</sup> exchangers: Structure, mechanism and physiology. *Channels*. 2008;2(5):337–345.

91. Kudrycki K.E., Newman P.R., Shull G.E. cDNA cloning and tissue distribution of mRNAs for two proteins that are related to the band  $3 \text{ Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  exchanger. *J. Biol. Chem.* 1990;265(1):462–471.

92. Alvarez B.V., Kieller D.M., Quon A.L., Robertson M., Casey J.R. Cardiac hypertrophy in anion exchanger 1-null mutant mice with severe hemolytic anemia. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007;292(3):H1301–H1312.

93. Lohi H., Lamprecht G., Markovich D., Heil A., Kujala M, Seidler U., Kere J. Isoforms of SLC26A6 mediate anion transport and have functional PDZ interaction domains. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2003;284(3): C769–C779.

94. Chernova M.N., Jiang L., Friedman D.J., Darman R.B., Lohi H., Kere J., Vandorpe D.H., Alper S.L. Functional comparison of mouse slc26a6 anion exchanger with human SLC26A6 polypeptide variants: Differences in anion selectivity, regulation, and electrogenicity. *J. Biol. Chem.* 2005;280(9):8564–8580.

95. Cingolani H.E., Chiappe G.E., Ennis I.L., Morgan P.G., Alvarez B.V., Casey J.R., Dulce R.A., Pérez N.G., Camilión de Hurtado M.C. Influence of Na<sup>+</sup>-Independent Cl<sup>-</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchange on the slow force response to myocardial stretch. *Circ. Res.* 2003;93(11):1082–1088.

> Поступила в редакцию 10.07.2024 После доработки 31.07.2024 Принята в печать 02.08.2024

## REVIEW

# Structural basis and molecular mechanisms of Cl<sup>-</sup> transmembrane transport in cardiomyocytes

Y.A. Voronina<sup>1, 2, \*</sup>, A.M. Karhov<sup>1, 2</sup>, V.S. Kuzmin<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Leninskie gory 1–12, Moscow, 119234, Russia; <sup>2</sup>Academician Smirnov Institute of Experimental Cardiology, Academician Chazov National Medical Research Centre of Cardiology, st. Academician Chazova, 15a, Moscow, 121552, Russia <sup>\*</sup>e-mail: voronina.yana.2014@post.bio.msu.ru

> The intracellular concentration of chlorine anions  $([Cl^-]_i)$ , the equilibrium potential for chlorine anions ( $E_{CI}$ ) and transmembrane chloride currents ( $I_{CI}$ ) are the factors that significantly influence the electrophysiological properties of excitable tissue, including the myocardium. Several types of chloride (anion) conductance have been identified in the heart. In recent years, a number of transmembrane proteins demonstrating chloride conductance have been identified (CFTR, ClC, TMEM16, LRRC8), and the expression of these macromolecules in cardiac tissue has been confirmed. Accumulated data allow for establishing a molecular substrate for some chloride anion currents ( $I_{Cl,PKA}$ ,  $I_{Cl,ir}$ ,  $I_{Cl,vol}$ ,  $I_{Cl,swell}$ ,  $I_{Cl,Ca}$ ,  $I_{to2}$ ) detected in the heart. Furthermore, the molecular mechanisms regulating [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> and E<sub>Cl</sub> through chloride cotransporters (KCC, NKCC1) and chloride-bicarbonate exchangers have been established. The variety of structures determining chloride transmembrane conductivity and the complexity of molecular mechanisms regulating chloride homeostasis underlie the complex effects of activation of chloride transporters in the pacemaker, conduction system and working myocardium of the heart. This review discusses the structural, biophysical properties and molecular regulation of chloride transporter protein complexes identified in the myocardium. The review also covers the mechanisms by which chloride transmembrane transport influences the bioelectrical activity of cardiomyocytes.

> **Keywords:** chloride channels, cation-chloride cotransporters, chloride-bicarbonate exchanger, chloride transport, chloride current, cardiac electrophysiology

Funding: The research was funded by Russian Science Foundation, project number 22-15-00189.

#### Сведения об авторах

*Воронина Яна Алексеевна* – ассистент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: voronina.yana.2014@post.bio. msu.ru; ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6624-7805

*Кархов Андрей Михайлович* – студент магистратуры кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: akarchoff@gmail. com; ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0919-0712

*Кузьмин Владислав Стефанович* – докт. биол. наук, проф. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: ku290381@ mail.ru; ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3075-4834