

# ОГЛЯДИ

УДК 612.17:546.41:577.352

## Роль іонів кальцію у спряженні збудження і скорочення у кардіоміоцитах

В.М. Шкриль

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: slava@biph.kiev.ua

*Кальцій є важливим сигнальним елементом та універсальним внутрішньоклітинним посередником, а також визначальним іоном у спряженні збудження і скорочення. Цей огляд присвячено опису кальцієвих рецепторів у цьому процесі у міоцитах міокарда. Основними джерелами підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію є його надходження з позаклітинного середовища за рахунок дигідропіридинових рецепторів і вивільнення з внутрішніх депо саркоплазматичного ретикулула через активацію ріанодинових рецепторів. Відсутність системи поперечних трубочок у міоцитах передсердя робить процес вивільнення  $Ca^{2+}$  специфічним порівняно з міоцитами шлуночків міокарда. У міоцитах передсердь, але не шлуночків, експресуються також інозитолтрифосфатні рецептори, які доповнюють регуляцію  $Ca^{2+}$ -сигналу. Описані в цьому огляді останні дані щодо внутрішньоклітинних кальцієвих рецепторів розкривають більш детально спряження збудження і скорочення та деталізують  $Ca^{2+}$ -залежну регуляцію кардіоміоцитів.*

*Ключові слова:  $Ca^{2+}$ ; ріанодиновий рецептор; кардіоміоцит; кальційіндуковане вивільнення кальцію; дигідропіридиновий рецептор.*

У кардіоміоциті спряження збудження і скорочення супроводжується низкою безперервних, послідовних і пов'язаних між собою процесів: від електричного збудження міоцита і кальцієвої мобілізації до розвитку скорочення в міокарді [1]. Потенціал дії (ПД), що з'являється при збудженні серцевої клітини, деполяризує сарколему. Це спричиняє до відкриття потенціалкерованих кальцієвих каналів L-типу (дигідропіридинових рецепторів, DHPR) і різкого підвищення локальної концентрації іонів кальцію поблизу плазмалеми та біля саркоплазматичного ретикулула (СР).  $Ca^{2+}$ , що ввійшов до клітини, активує канали вивільнення кальцію (ріанодинові рецептори; RyRs) у СР, що призводить до додаткового виходу  $Ca^{2+}$  з депо і різкого збільшення його концентрації в цитозолі [1]. У цьому процесі іон кальцію є вторинним посередником, запускаючи вивільнення

© В.М. Шкриль

кальцію із СР, що насамкінець і зумовлює до скорочення. Детально опишемо ці процеси.

### Спряження збудження і скорочення

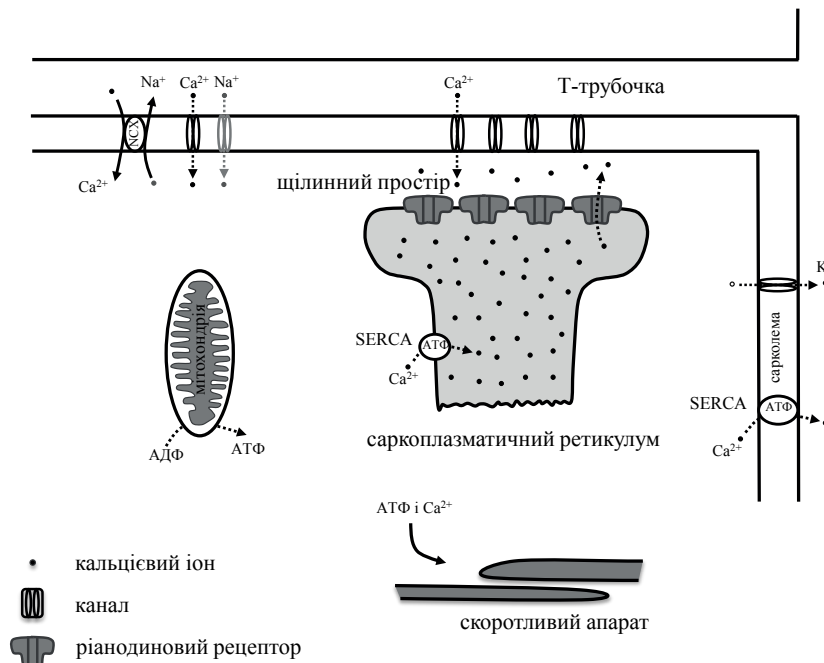
Міокард складається з різних типів клітин, які можна поділити на серцеві волокна – кардіоміоцити і клітини сполучної тканини – фібробласти. Останні, на відміну від кардіоміоцитів, є електрично незбудливими клітинами, що можуть утворювати щільні контакти з міоцитами. Кардіоміоцити відрізняються за своїми структурами і функціями. Їх можна поділити на клітини шлуночків і передсердь, котрі виконують скоротливу функцію міокарда, на клітини синоатріального та атріовентрикулярного вузлів серцевого ритму, пучок Гіса, а також на волокна провідної системи шлуночків, які також називають волокнами Пуркін'є. Вони забезпечують поширення збудження по міокарду шлуночків. Розмір

клітин міокарда може становити від декількох мікрометрів у діаметрі і сотень мікрометрів у довжину. Клітини передсердя мають меншу ширину порівняно з міоцитами шлуночків. Основними внутрішньоклітинними компонентами кардіоміоцита є міофібрили (скоротливий апарат), мітохондрії та СР [1]. Клітини вузлів серцевого ритму генерують запускаючий імпульс, який спричинює швидке відкриття натрієвих каналів (2 мс), і іони натрію, що входять у клітину, деполаризують сарколему міоцита, що призводить до початку скорочення кардіоміоцитів. У період між скороченнями (діастола, розслаблений стан) сарколема добре проникна для калію, але непроникна для натрію [2].

При деполаризації кардіоміоцита у сарколемі відкриваються потенціалкервані кальцієві канали L-типу, що зумовлює збільшенню локальної концентрації кальцію у щілинному просторі біля устя відкритих каналів, між сарколемою та СР [3]. Кальцій, що входить у щілинний простір, дифундує до саркоплазматичної мембрани ретикулула, активуючи RyRs за допомогою кальційінду-

кованого вивільнення кальцію (CICR; [4]), що призводить до глобального вивільнення кальцію з депо і дифузії його до скоротливого апарата. Частка кальцію, що входить у клітину через DHPR-канали, набагато менша від тієї, яка вивільняється з депо (СР) [5]. Коли кальцієві канали L-типу відкриті, у щілинному просторі локальна концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  різко збільшується до 10 – 20 мкмоль/л. Цієї концентрації достатньо, щоб активувати ріанодиновий рецептор (RyR) і вивільнити значну частину кальцію з СР [6]. При вивільненні  $\text{Ca}^{2+}$  з депо його концентрація у щілинному просторі збільшується до 100 мкмоль/л [7]. Іони кальцію дифундують з щілини, активуючи скоротливу систему, тим самим сприяючи скороченню клітини, що забезпечує необхідну силу скорочення серця для перекачування крові по організму.

Скорочення міоцита відбувається циклічно. Спочатку канали RyRs знаходяться переважно у закритому стані. При деполаризації і значному вході кальцію у щілинний простір, кальцій зв'язується з цитозольним місцем активації RyR, що призводить до



Схематичне зображення спряження збудження і скорочення (з модифікацією з [1])

відкривання каналу і викиду кальцію із СР. При цьому кальцій також починає зв'язується з місцем RyR, відповідальним за інактивацію каналу, переводячи його з відкритого стану до інактивованого. Після того як концентрація кальцію зменшується RyR-канал переходить з інактивованого у закритий стан та готовий до повторного відкривання [1, 8].

Сумарна кількість кальцію, що увійшов через DHPR та вивільнився при відкриванні RyRs у СР, становить значення, необхідне для активації скорочувального апарату [9]. Іони кальцію надходять до актин-міозінового комплексу, зв'язуються з тропоніном-С і за наявності АТФ запускають скорочення (весь процес схематично показано на рисунку). По завершенні скорочення іони кальцію зворотно перерозподіляються у клітині за рахунок активності сарко/ендоплазматичної АТФази (SERCA) і кальцієвого уніпортера мітохондрій та виводяться з клітини за допомогою  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника і АТФази сарколеми. Процес закінчується тим, що  $\text{K}^+$  пасивно виходять з клітини, реполяризуючи її мембрану [1].

Для забезпечення транз'єнтної зміни кальцієвого сигналу, в секундному часовому інтервалі і амплітуді, достатньої для скорочення, в міоцитах міокарда має існувати висока і водночас гнучка система буферизації  $\text{Ca}^{2+}$ . У цитоплазмі він зазвичай знаходиться у зв'язаному стані у співвідношенні 100:1 до вільного. Під час скорочення воно відразу змінюється приблизно до 10:1 [10]. Буферизація кальцію забезпечує оптимальне видалення вільного  $\text{Ca}^{2+}$  з цитозолу, щоб забезпечити потрібну кількість, доступну для скорочення в наступному ритмі [11].

Процес активації RyRs по всій клітині відрізняється між міоцитами передсердь і шлуночків серця. Це зумовлено відмінностями структури клітин, оскільки у міоцитах передсердь відсутні системи поперечних трубочок (Transverse tubule; Т-трубочок). Система Т-трубочок забезпечує близькість розташування  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів L-типу до кластерів RyRs по всьому об'ємі клітини.

### **Система поперечних трубочок**

Система Т-трубочок складається з вузьких трубочок, що пронизують клітину вглиб. Їх внутрішня частина сполучається із зовнішнім простором клітини. Вміст таких трубочок подібний до позаклітинного розчину і має високу концентрацію натрію і низький вміст калію. Як і сарколема, система Т-трубочок бере участь у передачі потенціалу дії. ПД розповсюджується по Т-трубочці, що забезпечує швидке поширення процесу скорочення по всьому об'єму клітини. При цьому ПД поширюється набагато швидше, ніж дифузійні процеси з ділянок з високою концентрацією кальцію [12].

### **Саркоплазматичний ретикулум (СР)**

Система органел малого розміру, що містять  $\text{Ca}^{2+}$ , розташованих практично по всій клітині, називається СР. У стані спокою вільна концентрація кальцію у ньому становить 1 ммоль/л [13, 14], де його частина зв'язана буфером з високою ємністю і з низькою афінністю до  $\text{Ca}^{2+}$  [13]. СР можна поділити на два підтипи: цистерни, що прилягають до сарколеми, і саркотрубочна мережа, що оточує скоротливі білки. Цистерни ретикулума контактують як з сарколемою, так і з системою поперечних трубочок, при цьому СР дещо сплюснутий таким чином, що його мембрана та система Т-трубочок є паралельними один до одного. Така спільна структура з мембран СР і Т-трубочок отримала назву діади. У скелетному м'язі організація мембрани дещо складніша: дві цистерни СР прилягають до однієї Т-трубочки з двох боків і утворюють структуру, що отримала назву тріади.

### **Особливості ультраструктури р'іанодино-вих і дигідропіридинових рецепторів**

RyRs групуються у кластери у мембрані СР та утворюють окремі місця викиду  $\text{Ca}^{2+}$  або кластери [15]. Відстань між окремими рецепторами у кластері становить до 30 нм. Оскільки розмір самого кластера близько 250 нм, це дає змогу розташувати у ньому

до 100 RyRs. Кластери RyRs знаходяться у безпосередній близькості до сарколеми або Т-трубочки, з щільною у 10 – 12 нм. RyRs і  $\text{Ca}^{2+}$ -канали L-типу часто розташовуються поряд, утворюючи функціональний елемент системи збудження та скорочення, який отримав назву елемент вивільнення кальцію ( $\text{EBCa}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  release unit; [16]).  $\text{Ca}^{2+}$ -канали L-типу і RyRs мають велику ймовірність колокалізації в  $\text{EBCa}^{2+}$  і утворюють функціональний елемент [17]. Куплоном називаються узгоджені дії  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів L-типу і RyRs у функціональному елементі [16, 18]. Іншими словами, куплон є функціональною групою синхронно працюючих каналів і сполучних білків CP. Активація одного або декількох RyRs в  $\text{EBCa}^{2+}$  призводить до швидкого підключення інших рецепторів, активуючи їх протягом кількох мілісекунд, що можна бачити в експерименті за допомогою реєстрації мініатюрних кальцієвих сигналів, які отримали назву  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахів (див. нижче).

Ультраструктурні дослідження показали, що, залежно від виду тварин, розміри кластера можуть варіювати від декількох десятків до 200 каналів RyRs [16, 19]. Так, за допомогою імунофлуоресцентної мікроскопії було виявлено, що кардіоміоцити щура містять 40 – 60 RyRs у ділянці  $\text{EBCa}^{2+}$  при більш щільній упаковці або ж 30 – 40 при менш щільній [20]. Пропорція  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів L-типу у серцевому м'язі варіює від 10 до 100 % від загального числа RyRs [21]. Близько 90 % усіх DHPR кардіоміоцита знаходяться біля сполучної щілини у місцях викиду  $\text{Ca}^{2+}$  [22]. Нещодавно було показано, що маленький розмір кластерів RyRs (10 – 50 од.) дає змогу забезпечити повнорозмірну величину події вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з CP (за допомогою активації DHPRs), але не здатний забезпечити спонтанний  $\text{Ca}^{2+}$ -спалах або хвилю під час діастоли. Збільшення розміру кластера (> 75) поступово підвищує ймовірність спостережень спонтанних  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахів, збільшуючи можливість появи аритміїподібної  $\text{Ca}^{2+}$ -активності [23]. Таким чином, величина кластера

RyRs відіграє важливу роль у функціонуванні  $\text{EBCa}^{2+}$ .

### Ріанодиновий рецептор

RyR є каналом вивільнення кальцію з CP. Свою назву він отримав від алкалоїда ріанодину, який є специфічним і селективним лігандом цього рецептора. Ріанодин у низьких концентраціях (1 – 1000 нмоль/л) прискорює втрати кальцію везикулами CP, але у високих концентраціях (> 100 мкмоль/л) блокує вивільнення кальцію, тобто блокує канал RyR [24]. Сам канал є тетрамером розміром в 560 кДа та складається з 4 однакових субодиниць [25]. У клітинах ссавців існує три ізоформи RyRs: RyR1, RyR2, RyR3 [26]. RyR1 експресується переважно у скелетних м'язах, RyR2 – у кардіоміоцитах і гладеньких м'язах, RyR3 – у нейронах головного мозку і дорсальних гангліїв.

Кальційзалежні місця активації RyR розміщені з цитозольного, так і з люмінального боку рецептора. Ці сайти синергічно доповнюють механізм його відкриття за допомогою активації каналу люмінальним і цитоплазматичним  $\text{Ca}^{2+}$ . RyRs також мають два місця інгібування в своїх цитоплазматичних доменах з афінністю до  $\text{Ca}^{2+}$  близько 1 мкмоль/л і 1 ммоль/л. Магній конкурує з  $\text{Ca}^{2+}$  на цих місцях інгібування RyR, що відіграє важливу роль в модуляції  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної активності в міоцитах [27].

Активація RyR2 і RyR3 є кальційзалежним процесом і запускається у кардіоміоцитах підвищенням цитоплазматичної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ . Однак регуляція RyR1 має особливості у скелетних м'язах, оскільки цей підтип рецепторів безпосередньо пов'язаний з DHPR через молекули білка напруги  $\text{CaV}1.1$ , що при деполяризації призводить до зміни його сенсора напруги в мембрані Т-трубочки [28]. При цьому відкриття RyR регулюється безпосередньо деполяризацією плазмалемі, і електричний сигнал передається від L-типу  $\text{Ca}^{2+}$  каналу безпосередньо на RyR-канал за допомогою сенсорного білка напруги [29].

Такий тип активації RyR отримав назву деполаризація індукованого вивільнення кальцію із СР. Він є прямим і не вимагає входу  $\text{Ca}^{2+}$  через DHPR-канал. Описаний механізм працює у скелетному волокні, де RyRs відкриваються навіть за відсутності зовнішнього кальцію. У кардіоміоциті такого не відбувається, і зовнішньоклітинний кальцій є необхідним для активації RyRs.

**Клітини передсердь і шлуночків серця: морфологія і тип саркоплазматичного ретикулула**  
Кардіоміоцити, які виконують скоротливу функцію, можна поділити на два типи: клітини передсердь і шлуночків. У міоцитах шлуночків добре розвинена тривимірною мережа Т-трубочок [30]. СР розташовується у безпосередній близькості до них на відстані 10 – 20 нм, утворюючи так звані діади [31], як зазначалося вище. СР, розташований у безпосередній близькості до Т-трубочки, називається сполучним (с-СР). У міоцитах передсердь система Т-трубочок погано розвинена або навіть відсутня [32, 33]. У таких клітинах можна виділити два типи СР: сарколемно-сполучний СР (сс-СР), який знаходиться на периферії клітини, де СР тісно пов'язаний з поверхневою мембраною міоцита [34], і несполучний СР (нс-СР), локалізований у глибині клітини. Таким чином, у міоцитах передсердя сс-СР тісно стикається з L-типом кальцієвих каналів, водночас нс-СР не пов'язаний з DHPRs. Як сс-СР, так і нс-СР беруть активну участь у вивільненні кальцію за допомогою відкриття RyRs [33-35]. Асоціація RyRs з  $\text{Ca}^{2+}$ -каналами L-типу отримала назву «з'єднання на периферії». На периферії клітини  $\text{EBCa}^{2+}$  функціонально організовані як класичний куплон [36, 37], що спостерігається у волокнах скелетного м'яза або кардіоміоцитах шлуночків.

**Процес вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  в кардіоміоцитах**  
Велику частину інформації про процес спряження збудження і скорочення отримано на кардіоміоцитах шлуночків. У цих клітинах

при появі ПД активуються  $\text{Ca}^{2+}$ -канали L-типу як у сарколемі, так і в системі Т-трубочок майже синхронно по всій клітині. Просторова і часова сумація вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з окремих  $\text{EBCa}^{2+}$  призводить до появи глобального клітинного  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу, який просторово досить однорідний по всьому об'єму.

У клітинах передсердь цей процес відрізняється, що зумовлено відсутністю або слабким розвитком системи Т-трубочок [32, 33]. У результаті вивільнення кальцію з СР не є однорідним і синхронним процесом [2, 9, 32, 38]. ПД і відкриття L-типу  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів забезпечує вхід потрібного кальцію у клітину для активації RyRs за допомогою CICR спочатку лише на периферії клітини (у сс-СР) [2, 34]. Поступово, з затримкою у 2 мс,  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнал поширюється всередину клітини і починається вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з нс-СР [2].

Вивільнення кальцію на периферії клітини забезпечує досить високий  $\text{Ca}^{2+}$ -градієнт, щоб подолати ємність ендогенного буфера [39], і поступово активує RyRs, розташовані всередині клітини за допомогою CICR при дифузії іонів кальцію з периферії до центру. При цьому відбувається послідовне вивільнення і поширення  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу всередину клітини за допомогою механізму вивільнення-дифузії-вивільнення (ВДВ) [2, 40].

Залишається відкритим питання про те, яким чином першочергово активуються RyRs у мембранах нс-СР. Добре відомо, що RyR2 має низьку чутливість до  $\text{Ca}^{2+}$  [41-43], що виключає можливість їх активування за допомогою CICR у фізіологічних умовах. На периферії клітини концентрація цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ , який входить через DHPRs, ледь перевищує 1 мкмоль/л, що не достатньо для відкриття RyRs нс-СР. Але в експерименті при регулярній частоті стимуляції міоцитів передсердя більшість цих рецепторів активуються не лише на периферії, а й у центрі [39]. Тобто сам механізм активації RyR специфічний.

Для більш детального розуміння вивільнення кальцію у міоцитах передсердя опишемо хід поширення кальцієвої хвилі у

клітинах шлуночка. Вона поширюється по всій поверхні клітини і спостерігається при перезавантаженні СР іонами кальцію. При цьому збільшення концентрації вільного кальцію ( $[Ca^{2+}]_i$ ) на передньому фронті хвилі викликає локальне, зворотне захоплення  $Ca^{2+}$  у СР за допомогою SERCA-помпи. Таке збільшення концентрації кальцію всередині СР підвищує чутливість RyRs до  $Ca^{2+}$ , забезпечуючи CICR [44, 45]. Таким чином у кардіоміоцитах шлуночків зменшує поріг активації RyRs  $Ca^{2+}$  і дає змогу поширюватися від периферії до центру клітини, активуючи більшу частину рецепторів клітини. Цей механізм був запропонований на підставі непрямих даних [46], теоретичних міркувань [47, 48] і експериментально підтверджений прямими вимірюваннями як цитозольного, так і люмінального  $Ca^{2+}$  [49].

Було запропоновано механізм, що пояснює вивільнення кальцію у кардіоміоцитах передсердь для нс-СР [50]. Як було описано вище, у цих клітинах ПД викликає деполяризацію сарколеми і активує L-тип  $Ca^{2+}$ -каналів. За допомогою CICR вивільняється кальцій з сс-СР на периферії клітини, спричиняє початковий градієнт  $Ca^{2+}$  у цитоплазмі. Вивільнений кальцій захоплюється SERCA-помпою у прилеглі органели нс-СР, що сенсibiliзує RyRs за допомогою збільшення вмісту  $Ca^{2+}$  у цих органелах. Це, у свою чергу, знижує поріг активації цитозольного сайту регуляції RyRs і, вже при підвищеній концентрації  $Ca^{2+}$  у цитозолі він вивільняється з органел нс-СР. Також підвищується його вмісту у СР, що в свою чергу подовжує час відкритого стану RyRs [51] і збільшує  $Ca^{2+}$ -потік через рецептори, як позитивний зворотний зв'язок цього процесу. Поступове поширення сигналу в цитоплазмі підвищує концентрацію кальцію у сусідніх органелах СР, забезпечуючи поступове його вивільнення по всій клітині та призводить до поширення сигналу як всередині мережі СР органел, так і в цитоплазмі. Такий механізм отримав назву вивільнення-поширення-захоплення-вивільнення (ВПЗВ; [50]), який

описує процес активації і вивільнення  $Ca^{2+}$  всередині міоцитів передсердь. Цей процес подібний до вищеописаного механізму поширення кальцієвої хвилі в міоцитах шлуночка при перезавантаженні СР кальцієм.

### **Припинення вивільнення $Ca^{2+}$ із саркоплазматичного ретикулума**

Оскільки скорочення і розслаблення міокарда є циклічним, регуляція вивільнення  $Ca^{2+}$  з депо вимагає наявності механізму припинення його вивільнення. При розслабленні міоцита під час діастолі концентрація іонів кальцію у цитозолі починає знижуватися, що дає змогу йому від'єднатися від тропоніну.  $[Ca^{2+}]_i$  відновлюється до низького значення через повернення  $Ca^{2+}$  до СР за допомогою SERCA-помпи, виведення іонів з клітини за рахунок  $Na^+/Ca^{2+}$ -обмінника і  $Ca^{2+}$ -АТФази у сарколемі та його захоплення мітохондріями за допомогою  $Ca^{2+}$ -уніпортера.

Існує декілька принципово відмінних механізмів припинення вивільнення  $Ca^{2+}$  з СР. Вони регулюються люмінальними механізмами, що ґрунтуються на регуляції відкривання-закривання RyRs власне кальцієм всередині СР [51], люмінальним сенсором стану [44, 52] або за допомогою калсеквістрину (кальційзв'язуючого білка всередині СР; calsequestrin, або CASQ) [53, 54]. Також термінація вивільнення  $Ca^{2+}$  може відбуватися за допомогою негативного алостеричного зв'язку між RyRs (закривання одного RyR сприяє закриванню інших каналів [55, 56]), стохастичного виснаження (stochastic attrition), та існує велика ймовірність одночасного переходу каналів до закритого стану [55], або механізму виснаження, при якому зменшується потік  $Ca^{2+}$  нижче від порога для підтримки CICR [57, 58]. Процес локального виснаження СР є важливим для регуляції припинення вивільнення іонів кальцію як за нормальних, так і патологічних умов [59].

Припинення вивільнення у міокарді передсердь відрізняється у сс-СР та нс-СР. У центрі цих клітин CASQ має меншу колока-

лізацію з RyRs і більш слабке їх інгібування, хоча збудливість центральних RyRs є більшою [59, 60]. Знижена експресія білка CASQ призводить до зменшення буферної ємності, і, у свою чергу, – до зниження концентрації загального кальцію всередині CP [50]. У міоцитах передсердя менше виснаження CP на периферії і велика амплітуда  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу в цитоплазмі цієї ділянки свідчить про більшу ефективність CICR для RyRs cc-CP. Також реактивація RyRs-каналів у nc-CP повільніша, ніж у cc-CP, що пов'язано з відмінностями механізмів вивільнення на периферії і всередині клітини [2]. Специфіка механізму припинення вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  у nc-CP дає змогу при меншій амплітуді  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу викликати більше виснаження CP при CICR і сприяє поширенню  $\text{Ca}^{2+}$  всередину клітини. На периферії клітини він вивільняється з CP у малому об'ємі та з великою ймовірністю активує всі RyRs в  $\text{EBCa}^{2+}$ . При цьому канали практично одночасно інактивуються за допомогою кальційзалежної інактивації. В ділянці nc-CP завдяки більш повільній активації не всі RyRs-канали відразу відкриваються і співвідношення відкритих-закритих поступово змінюється. Через це  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнал у центрі помітно подовжується порівняно з периферією. Така більш тривала робота  $\text{EBCa}^{2+}$  для nc-CP призводить до більшого виснаження кальцію із CP. Це було підтверджено експериментально за допомогою реєстрації мініатюрних  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналів (спалахів), коли їх амплітуди сильно відрізнялися в центрі та на периферії [2].

### Кальцієві спалахи

Методи клітинної електрофізіології та конфокальної мікроскопії дали змогу з'ясувати механізми електричної і скоротливої активності міокарда, а також дослідити його фармакологічну регуляцію як на рівні окремої клітини, так і цілого серця. У кардіоміоцитах передсердя і шлуночків міокарда були зареєстровані елементарні, стереотипні, локальні процеси вивільнення кальцію з CP за допо-

могою відкривання RyRs, які отримали назву кальцієвих спалахів ( $\text{Ca}^{2+}$  spark) [61]. Такі швидкі викиди кальцію можна візуалізувати за допомогою скануючої, конфокальної мікроскопії з використанням флуоресцентного барвника.  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахи у кардіоміоциті можуть спостерігатися у стані спокою (або при дуже низькій частоті стимуляції), а також з'являються стохастичним чином навіть за відсутності входу  $\text{Ca}^{2+}$ . Кальцієві спалахи у міоцитах шлуночків спостерігаються по всій клітині у місцях наближення Т-трубочки з CP [31, 61]. У цих клітинах  $\text{EBCa}^{2+}$  (де і з'являються  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахи) позиціонуються один від одного на відстані 1 мкм радіально або 2 мкм поздовжньо [6], а в міоцитах передсердя  $\text{EBCa}^{2+}$  розташовані на відстані 2 мкм один від одного [34]. У цих клітинах  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахи спостерігаються як на периферії, так і в центральних ділянках клітини [32, 35, 62], однак перші виникають частіше [35]. Спалахи у міоцитах шлуночків просторово асиметричні; вони на 18% більш в поздовжньому напрямку [35] (хоча Banyasz та співавт. [63] спостерігали просторово симетричні події). Симетричні спалахи були зареєстровані також у скелетних м'язах жаби, але вони подовжувалися у поперечному напрямку при попередній активації RyRs за допомогою кофеїну [64].

Аналіз  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахів має важливе значення для розуміння ролі дифузії іонів кальцію в місцях викиду з CP у спряженні збудження і скорочення. Так, при більш вираженій дифузії  $\text{Ca}^{2+}$  в одному напрямку, спалах імовірно теж повинен збільшуватися у цьому ж напрямку. Асиметричний спалах може бути пояснено також особливостями спряження збудження і скорочення або умовами реєстрацій. Gonzalez і співавт. [65] пояснювали це явище участю декількох RyRs, задіяних в утворення спалаху. Обмеженість дифузії у будь-якому напрямку може обумовлюватися наявністю певних механічних бар'єрів, що гальмують поширення іонів [66]. Так, якщо  $\text{Ca}^{2+}$  починає дифундувати однорідно від симетричного кластера RyRs, але потім сягає перешкоди,

то починає поширюватися анізотропно. У такому разі і кальцієвий флуоресцентний сигнал буде вкорочений у цьому напрямку. Така асиметрія  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахів може зумовлюватися анізотропністю розташування клітинних органел або міофіламентів у кардіоміоциті. Перешкодою до дифузії  $\text{Ca}^{2+}$  є також мітохондрії [67], що відіграють активну роль у поглинанні кальцію, як це було запропоновано для клітин серця [68] та інших органів [69, 70].

Кожен  $\text{Ca}^{2+}$ -спалах являє собою вивільнення кальцію з кластера  $\text{RyRs}$  при синхронній активності від 6 до 20 каналів [5]. У міоцитах шлуночків глобальний кальцієвий сигнал, що викликається ПД, утворюється просторовим сумуванням окремих спалахів [3, 71]. А у клітинах передсердь він являє собою спочатку сумування  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахів у зоні сарколеми (периферійне підвищення), а потім відображає подальшу їх появу і поступове поширення сигналу вглиб клітини [32, 34].

### Інозитолтрифосфатні рецептори

Допоміжним механізмом регуляції скорочення міоцитів передсердь є процес модуляції вивільнення кальцію із СР за допомогою інозитолтрифосфатних рецепторів ( $\text{IP}_3\text{Rs}$ ). Вони тісно пов'язані з родиною  $\text{RyR}$ , розділяючи з ними високу структурну гомологію [72].  $\text{IP}_3\text{Rs}$  експресуються у міоцитах передсердя з високою щільністю [11]. У клітинах шлуночків вони відсутні [73].  $\text{IP}_3\text{Rs}$  зазвичай активуються судиноактивним агоністом ангіотензином-II, ендотеліном та іншими під час гуморальної регуляції, що підсилює можливість модуляції процесів скорочення.  $\text{IP}_3$  - опосередковане вивільнення кальцію може модулювати процес вивільнення кальцію в міоцитах передсердя [74]. Вплив  $\text{IP}_3\text{Rs}$  більш виражений на периферії клітини і практично відсутній у її центрі. Таким чином, вивільнення кальцію на периферії міоцита має додаткову  $\text{IP}_3\text{Rs}$ , зумовлену регуляцію скорочення клітини.

Стисло узагальнимо цей огляд. Процес вивільнення іонів кальцію у кардіоміоцитах відрізняється у клітинах передсердь і шлуночків. Він ініціюється входом зовнішнього кальцію за допомогою  $\text{DHPRs}$ . У клітинах шлуночків з розвиненою системою Т-трубочок, деполяризація сарколеми і відкриття L-типу  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів забезпечує концентрацію іонів кальцію, потрібну для активації  $\text{RyRs}$  за допомогою  $\text{CICR}$  по всьому об'єму клітини. У міоцитах передсердь, де відсутня система Т-трубочок, деполяризація сарколеми призводить до відкриття L-типу  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів і активує  $\text{RyRs}$  спочатку лише на периферії клітини. Через декілька мілісекунд  $\text{Ca}^{2+}$  починає дифундувати всередину клітини і активувати  $\text{RyRs}$  за допомогою механізмів ВДВ у цитоплазмі та цитозольно-люмінального ВПЗВ. У міоцитах передсердь, але не шлуночків, експресуються також  $\text{IP}_3\text{Rs}$ , які доповнюють регуляцію  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу, як позитивний  $\text{IP}_3\text{Rs}$ -опосередкований ефект, і гуморальна регуляція процесу скорочення серця. Така специфічна регуляція процесу вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  в кардіоміоцитах забезпечує вибірковість і унікальність підвищення його внутрішньоклітинного вмісту, дає потрібну концентрацію для скорочення клітин як передсердь, так і шлуночків. Вивільнення кальцію у цих клітинах охарактеризовано як на глобальному рівні  $\text{Ca}^{2+}$ -транз'єнтів, так і на локальному –  $\text{Ca}^{2+}$ -спалахів. Описані механізми  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналізації дають змогу узагальнити процеси спряження збудження і скорочення у кардіоміоцитах.

За допомогою описаних механізмів вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  в процесі спряження збудження і скорочення доповнює наше розуміння фізіології скорочення кардіоміоцита. Картина активації і термінації вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  в цілому з'ясована. Хоч залишаються деякі моменти стосовно: активації і припинення вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з СР; точної кількості  $\text{RyRs}$ , що беруть участь у  $\text{Ca}^{2+}$ -спалаху; рівня виснаження кальцію в СР; морфологічних особливостей; точної локалізації  $\text{RyRs}$  з іншими



рецепторами і каналами. Дослідження, як на рівні окремих каналів, так і всього процесу в цілому, важливі для розуміння не тільки фундаментальних основ фізіології скорочення серця, але і патологічних станів, наприклад серцевої недостатності. Поява нових флуоресцентних систем реєстрації зі збільшеною часовою і просторовою здатністю, і нових  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливих зондів та комп'ютерного моделювання, дасть змогу деталізувати приховані механізми вивільнення кальцію в кардіоміоцитах.

*The author of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**В.М. Шкрыль**

## **РОЛЬ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ В СОПРЯЖЕНИИ ВОЗБУЖДЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ В КАРДИОМИОЦИТАХ**

Кальций является важным сигнальным элементом и универсальным внутриклеточным посредником, и определяющим ионом в процессе сопряжения возбуждения и сокращения. Данный обзор посвящен описанию кальциевых рецепторов в этом процессе в миоцитах миокарда. Основными источниками повышения внутриклеточной концентрации кальция являются его поступление из внеклеточной среды за счет дигидропиридиновых рецепторов и высвобождение из внутренних депо саркоплазматического ретикула (СР) путем активации рианоминовых рецепторов (RyR). Отсутствие системы поперечных трубочек в миоцитах предсердия делает высвобождение  $\text{Ca}^{2+}$  специфическим в сравнении с желудочками миокарда. В миоцитах предсердий, но не желудочков, экспрессируются также инозитолтрифосфатные рецепторы, которые дополняют регуляцию  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнала. Описанные в данном обзоре последние данные относительно внутриклеточных кальциевых рецепторов раскрывают более детально сопряжение возбуждения и сокращения и детализируют  $\text{Ca}^{2+}$  - зависимую регуляцию кардиомиоцита.

Ключевые слова:  $\text{Ca}^{2+}$ ; рианоминовый рецептор; кардиомиоцит; кальцийиндуцированное высвобождение кальция; дигидропиридиновый рецептор.

**V.M. Shkryl**

## **ROLE OF CALCIUM IONS IN EXCITATION-CONTRACTION COUPLING IN CARDIOMYOCYTES**

Calcium is an important signaling element and universal intracellular messenger and the determining ion of Excitation-Contraction Coupling. This review describes calcium receptors at this process in cardiomyocytes. The main sources of increase of intracellular calcium level is entry from extracellular medium by dihydropyridine receptors and release from internal stores, in particular, from the sarcoplasmic reticulum (SR) via activation of ryanodine receptors. The absence of a transverse tubular network in the atria myocytes makes the  $\text{Ca}^{2+}$  release process specific to the ventricular cells of the myocardium. Atrial myocytes, but not ventricular, also express inositol triphosphate receptors that complement the regulation of  $\text{Ca}^{2+}$  signal. Described in this review the latest data on intracellular calcium receptors disclosed in more detail of Excitation-Contraction Coupling and details  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent regulation of cardiomyocyte.

Key words:  $\text{Ca}^{2+}$ ; ryanodine receptor; cardiomyocyte; calcium induced calcium release; dihydropyridine receptor.

*Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine; Kyiv, e-mail: slava@biph.kiev.ua*

## **REFERENCES**

1. Bers DM. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*. 2002;415(6868):198-205.
2. Shkryl VM, Blatter LA.  $\text{Ca}^{2+}$  release events in cardiac myocytes up close: insights from fast confocal imaging. *PLoS One*. 2013;8(4):e61525.
3. Cannell MB, Cheng H, Lederer WJ. Spatial non-uniformities in  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  during excitation-contraction coupling in cardiac myocytes. *Biophys J*. 1994;67(5):1942-56.
4. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol*. 1983;245(1):C1-14.
5. Shkryl VM, Blatter LA, Rios E. Properties of  $\text{Ca}^{2+}$  sparks revealed by four-dimensional confocal imaging of cardiac muscle. *J Gen Physiol*. 2012;139(3):189-207.
6. Bers DM. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Annu Rev Physiol*. 2008;70:23-49.
7. Langer GA, Peskoff A. Calcium concentration and movement in the diadic cleft space of the cardiac ventricular cell. *Biophys J*. 1996;70(3):1169-82.
8. Jones PP, Guo W, Chen SRW. Control of cardiac ryanodine receptor by sarcoplasmic reticulum luminal  $\text{Ca}^{2+}$ . *J Gen Physiol*. 2017;149(9):867-75.
9. Blatter LA, Kocksamper J, Sheehan KA, Zima AV, Huser J, Lipsius SL. Local calcium gradients during excitation-contraction coupling and alternans in atrial myocytes. *J Physiol*. 2003;546(Pt 1):19-31.
10. MacGowan GA, Kirk JA, Evans C, Shroff SG. Pressure-

- calcium relationships in perfused mouse hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;290(6):H2614-24.
11. Gambardella J, Trimarco B, Iaccarino G, Santulli G. New Insights in Cardiac Calcium Handling and Excitation-Contraction Coupling. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1067:373-85.
  12. Cleemann L, Wang W, Morad M. Two-dimensional confocal images of organization, density, and gating of focal  $\text{Ca}^{2+}$  release sites in rat cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(18):10984-9.
  13. Rios E. Perspectives on "Control of Ca release from within the cardiac sarcoplasmic reticulum". *J Gen Physiol.* 2017;149(9):833-6.
  14. Shannon TR, Guo T, Bers DM.  $\text{Ca}^{2+}$  scraps: local depletions of free  $[\text{Ca}^{2+}]$  in cardiac sarcoplasmic reticulum during contractions leave substantial  $\text{Ca}^{2+}$  reserve. *Circ Res.* 2003;93(1):40-5.
  15. Franzini-Armstrong C, Jorgensen AO. Structure and development of E-C coupling units in skeletal muscle. *Annu Rev Physiol.* 1994;56:509-34.
  16. Franzini-Armstrong C, Protasi F, Ramesh V. Comparative ultrastructure of  $\text{Ca}^{2+}$  release units in skeletal and cardiac muscle. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;853:20-30.
  17. Carl SL, Felix K, Caswell AH, Brandt NR, Ball WJ, Jr., Vaghy PL, et al. Immunolocalization of sarcolemmal dihydropyridine receptor and sarcoplasmic reticular triadin and ryanodine receptor in rabbit ventricle and atrium. *J Cell Biol.* 1995;129(3):673-82.
  18. Stern MD, Pizarro G, Rios E. Local control model of excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *J Gen Physiol.* 1997;110(4):415-40.
  19. Soeller C, Crossman D, Gilbert R, Cannell MB. Analysis of ryanodine receptor clusters in rat and human cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(38):14958-63.
  20. Hou Y, Jayasinghe I, Crossman DJ, Baddeley D, Soeller C. Nanoscale analysis of ryanodine receptor clusters in dyadic couplings of rat cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 2015;80:45-55.
  21. Wibo M, Bravo G, Godfraind T. Postnatal maturation of excitation-contraction coupling in rat ventricle in relation to the subcellular localization and surface density of 1,4-dihydropyridine and ryanodine receptors. *Circ Res.* 1991;68(3):662-73.
  22. Franzini-Armstrong C, Protasi F, Ramesh V. Shape, size, and distribution of  $\text{Ca}^{2+}$  release units and couplons in skeletal and cardiac muscles. *Biophys J.* 1999;77(3):1528-39.
  23. Galice S, Xie Y, Yang Y, Sato D, Bers DM. Size Matters: Ryanodine Receptor Cluster Size Affects Arrhythmogenic Sarcoplasmic Reticulum Calcium Release. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(13):1-13.
  24. Fabiato A. Effects of ryanodine in skinned cardiac cells. *Fed Proc.* 1985;44(15):2970-6.
  25. Takeshima H, Nishimura S, Matsumoto T, Ishida H, Kangawa K, Minamino N, et al. Primary structure and expression from complementary DNA of skeletal muscle ryanodine receptor. *Nature.* 1989;339(6224):439-45.
  26. McPherson PS, Campbell KP. Characterization of the major brain form of the ryanodine receptor/ $\text{Ca}^{2+}$  release channel. *J Biol Chem.* 1993;268(26):19785-90.
  27. Laver DR. Regulation of the RyR channel gating by  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$ . *Biophys Rev.* 2018;10(4):1087-95.
  28. Hernandez-Ochoa EO, Schneider MF. Voltage sensing mechanism in skeletal muscle excitation-contraction coupling: coming of age or midlife crisis? *Skelet Muscle.* 2018;8(1):22.
  29. Rios E, Brum G. Involvement of dihydropyridine receptors in excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Nature.* 1987;325(6106):717-20.
  30. Soeller C, Cannell MB. Examination of the transverse tubular system in living cardiac rat myocytes by 2-photon microscopy and digital image-processing techniques. *Circ Res.* 1999;84(3):266-75.
  31. Shacklock PS, Wier WG, Balke CW. Local  $\text{Ca}^{2+}$  transients ( $\text{Ca}^{2+}$  sparks) originate at transverse tubules in rat heart cells. *J Physiol.* 1995;487 ( Pt 3):601-8.
  32. Huser J, Lipsius SL, Blatter LA. Calcium gradients during excitation-contraction coupling in cat atrial myocytes. *J Physiol.* 1996;494 ( Pt 3):641-51.
  33. Mackenzie L, Bootman MD, Berridge MJ, Lipp P. Predetermined recruitment of calcium release sites underlies excitation-contraction coupling in rat atrial myocytes. *J Physiol.* 2001;530(Pt 3):417-29.
  34. Kockskamper J, Sheehan KA, Bare DJ, Lipsius SL, Mignery GA, Blatter LA. Activation and propagation of  $\text{Ca}^{2+}$  release during excitation-contraction coupling in atrial myocytes. *Biophys J.* 2001;81(5):2590-605.
  35. Sheehan KA, Zima AV, Blatter LA. Regional differences in spontaneous  $\text{Ca}^{2+}$  spark activity and regulation in cat atrial myocytes. *J Physiol.* 2006;572(Pt 3):799-809.
  36. Scriven DR, Asghari P, Moore ED. Microarchitecture of the dyad. *Cardiovasc Res.* 2013;98(2):169-76.
  37. Stern MD, Song LS, Cheng H, Sham JS, Yang HT, Boheler KR, et al. Local control models of cardiac excitation-contraction coupling. A possible role for allosteric interactions between ryanodine receptors. *J Gen Physiol.* 1999;113(3):469-89.
  38. Berlin JR. Spatiotemporal changes of  $\text{Ca}^{2+}$  during electrically evoked contractions in atrial and ventricular cells. *Am J Physiol.* 1995;269(3 Pt 2):H1165-70.
  39. Sheehan KA, Blatter LA. Regulation of junctional and non-junctional sarcoplasmic reticulum calcium release in excitation-contraction coupling in cat atrial myocytes. *J Physiol.* 2003;546(Pt 1):119-35.
  40. Keizer J, Smith GD, Ponce-Dawson S, Pearson JE. Saltatory propagation of  $\text{Ca}^{2+}$  waves by  $\text{Ca}^{2+}$  sparks. *Biophys J.* 1998;75(2):595-600.
  41. Meissner G, Henderson JS. Rapid calcium release from cardiac sarcoplasmic reticulum vesicles is dependent on  $\text{Ca}^{2+}$  and is modulated by  $\text{Mg}^{2+}$ , adenine nucleotide, and calmodulin. *J Biol Chem.* 1987;262(7):3065-73.
  42. Cannell MB, Soeller C. Numerical analysis of ryanodine receptor activation by L-type channel activity in the cardiac muscle diad. *Biophys J.* 1997;73(1):112-22.
  43. Qin J, Valle G, Nani A, Chen H, Ramos-Franco J, Nori A, et al. Ryanodine receptor luminal  $\text{Ca}^{2+}$  regulation:

- swapping calsequestrin and channel isoforms. *Biophys J.* 2009;97(7):1961-70.
44. Gyorke I, Gyorke S. Regulation of the cardiac ryanodine receptor channel by luminal Ca<sup>2+</sup> involves luminal Ca<sup>2+</sup> sensing sites. *Biophys J.* 1998;75(6):2801-10.
  45. Gyorke S, Belevych AE, Liu B, Kubasov IV, Carnes CA, Radwanski PB. The role of luminal Ca regulation in Ca signaling refractoriness and cardiac arrhythmogenesis. *J Gen Physiol.* 2017;149(9):877-88.
  46. Keller M, Kao JP, Egger M, Niggli E. Calcium waves driven by “sensitization” wave-fronts. *Cardiovasc Res.* 2007;74(1):39-45.
  47. Ramay HR, Jafri MS, Lederer WJ, Sobie EA. Predicting local SR Ca(2+) dynamics during Ca(2+) wave propagation in ventricular myocytes. *Biophys J.* 2010;98(11):2515-23.
  48. Sobie EA, Williams GSB, Lederer WJ. Ambiguous interactions between diastolic and SR Ca<sup>2+</sup> in the regulation of cardiac Ca<sup>2+</sup> release. *J Gen Physiol.* 2017;149(9):847-55.
  49. Maxwell JT, Blatter LA. Facilitation of cytosolic calcium wave propagation by local calcium uptake into the sarcoplasmic reticulum in cardiac myocytes. *J Physiol.* 2012;590(23):6037-45.
  50. Maxwell JT, Blatter LA. A novel mechanism of tandem activation of ryanodine receptors by cytosolic and SR luminal Ca<sup>2+</sup> during excitation-contraction coupling in atrial myocytes. *J Physiol.* 2017;595(12):3835-45.
  51. Chen H, Valle G, Furlan S, Nani A, Gyorke S, Fill M, et al. Mechanism of calsequestrin regulation of single cardiac ryanodine receptor in normal and pathological conditions. *J Gen Physiol.* 2013;142(2):127-36.
  52. Ching LL, Williams AJ, Sitsapesan R. Evidence for Ca(2+) activation and inactivation sites on the luminal side of the cardiac ryanodine receptor complex. *Circ Res.* 2000;87(3):201-6.
  53. Terentyev D, Viatchenko-Karpinski S, Gyorke I, Volpe P, Williams SC, Gyorke S. Calsequestrin determines the functional size and stability of cardiac intracellular calcium stores: Mechanism for hereditary arrhythmia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(20):11759-64.
  54. Gyorke S, Stevens SC, Terentyev D. Cardiac calsequestrin: quest inside the SR. *J Physiol.* 2009;587(Pt 13):3091-4.
  55. Stern MD. Theory of excitation-contraction coupling in cardiac muscle. *Biophys J.* 1992;63(2):497-517.
  56. Marx SO, Gaburjakova J, Gaburjakova M, Henrikson C, Ondrias K, Marks AR. Coupled gating between cardiac calcium release channels (ryanodine receptors). *Circ Res.* 2001;88(11):1151-8.
  57. Laver DR, Kong CH, Imtiaz MS, Cannell MB. Termination of calcium-induced calcium release by induction decay: an emergent property of stochastic channel gating and molecular scale architecture. *J Mol Cell Cardiol.* 2013;54:98-100.
  58. Gillespie D, Fill M. Pernicious attrition and inter-RyR2 CICR current control in cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol.* 2013;58:53-8.
  59. Blatter LA. The intricacies of atrial calcium cycling during excitation-contraction coupling. *J Gen Physiol.* 2017;149(9):857-65.
  60. Schulson MN, Scriven DR, Fletcher P, Moore ED. Couplons in rat atria form distinct subgroups defined by their molecular partners. *J Cell Sci.* 2011;124(Pt 7):1167-74.
  61. Cheng H, Lederer WJ, Cannell MB. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. *Science.* 1993;262(5134):740-4.
  62. Blatter LA, Huser J, Rios E. Sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> release flux underlying Ca<sup>2+</sup> sparks in cardiac muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(8):4176-81.
  63. Banyasz T, Chen-Izu Y, Balke CW, Izu LT. A new approach to the detection and statistical classification of Ca<sup>2+</sup> sparks. *Biophys J.* 2007;92(12):4458-65.
  64. Brum G, Gonzalez A, Rengifo J, Shirokova N, Rios E. Fast imaging in two dimensions resolves extensive sources of Ca<sup>2+</sup> sparks in frog skeletal muscle. *J Physiol.* 2000;528(Pt 3):419-33.
  65. Gonzalez A, Kirsch WG, Shirokova N, Pizarro G, Brum G, Pessah IN, et al. Involvement of multiple intracellular release channels in calcium sparks of skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(8):4380-5.
  66. Cheng H, Lederer MR, Xiao RP, Gomez AM, Zhou YY, Ziman B, et al. Excitation-contraction coupling in heart: new insights from Ca<sup>2+</sup> sparks. *Cell Calcium.* 1996;20(2):129-40.
  67. Budko AY, Strutynska NA, Okhay IY, Semenykhina OM, Sagach VF. [Ca(2+) accumulation in isolated rat heart mitochondria under maintenance of mitochondrial potential]. *Fiziol Zh.* 2015;61(6):17-25. [Ukrainian].
  68. Bassani RA, Bassani JW, Bers DM. Relaxation in ferret ventricular myocytes: unusual interplay among calcium transport systems. *J Physiol.* 1994;476(2):295-308.
  69. Jouaville LS, Ichas F, Holmuhamedov EL, Camacho P, Lechleiter JD. Synchronization of calcium waves by mitochondrial substrates in *Xenopus laevis* oocytes. *Nature.* 1995;377(6548):438-41.
  70. Shkryl VM, Shirokova N. Transfer and tunneling of Ca<sup>2+</sup> from sarcoplasmic reticulum to mitochondria in skeletal muscle. *J Biol Chem.* 2006;281(3):1547-54.
  71. Niggli E. Localized intracellular calcium signaling in muscle: calcium sparks and calcium quarks. *Annu Rev Physiol.* 1999;61:311-35.
  72. Santulli G, Nakashima R, Yuan Q, Marks AR. Intracellular calcium release channels: an update. *J Physiol.* 2017;595(10):3041-51.
  73. Domeier TL, Zima AV, Maxwell JT, Huke S, Mignery GA, Blatter LA. IP<sub>3</sub> receptor-dependent Ca<sup>2+</sup> release modulates excitation-contraction coupling in rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294(2):H596-604.
  74. Kockskamper J, Zima AV, Roderick HL, Pieske B, Blatter LA, Bootman MD. Emerging roles of inositol 1,4,5-trisphosphate signaling in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;45(2):128-47.

*Матеріал надійшов до редакції 20.04.2018*