

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЯ СЕРДЦА *Danio rerio*

© 2024 г. А. В. Карпушев^{а, *}, В. Б. Михайлова^б, А. А. Костарева^б, Б. С. Жоров^{а, б}

^аИнститут эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223 Россия

^бНациональный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Минздрава России,

Санкт-Петербург, 197341 Россия

*e-mail: akarpushev@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.11.2023

После доработки 30.01.2024

Принята к печати 30.01.2024

Тропическая рыбка *Danio rerio* имеет большую популярность как модельный объект для электрофизиологических исследований сердечной физиологии и патологии человека. *D. rerio* отличается сходство с человеком таких функциональных параметров электрической активности сердца, как частота сердечных сокращений, морфология потенциала действия, а также набор деполяризующих и реполяризующих клеточную мембрану ионных токов. *D. rerio* легко разводить, с рыбой несложно обращаться в эксперименте и легко модифицировать генетически. В обзоре представлены современные данные по структурно-функциональной организации ионных каналов в миоцитах сердца *D. rerio*.

Ключевые слова: *Danio rerio*, сердце, кардиомиоцит, ионный ток, электрофизиология

Список сокращений: МПП — мембранный потенциал покоя; ПД — потенциал действия; СР — саркоплазматический ретикулум; ЧСС — частота сердечных сокращений; ЭКГ — электрокардиограмма; I_{CaL} — Ca^{2+} -ток L-типа; I_{CaT} — Ca^{2+} -ток T-типа; I_f или I_h — пейсмекерный ток; I_{KACh} — ацетилхолин-зависимый K^+ -ток внутреннего выпрямления; I_{KATP} — АТР-чувствительный K^+ -ток внутреннего выпрямления; I_{KCa} — ток Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов; I_{K2p} — ток K^+ -каналов с двумя поровыми доменами; I_{Kr} — быстрая компонента K^+ -тока задержанного выпрямления; I_{Ks} — медленная компонента K^+ -тока задержанного выпрямления; I_{Kslow} — медленно инактивирующийся K^+ -ток; I_{Kur} — ультрабыстрый K^+ -ток задержанного выпрямления; I_{K1} — K^+ -ток внутреннего выпрямления; I_{Na} — Na^+ -ток; I_{to} — транзиторный выходящий ток; LQTS — синдром длинного интервала QT; NCX — натрий-кальциевый обменник; $V_{0.5a}$ и $V_{0.5i}$ — потенциал половины максимальной стационарной активации и инактивации.

DOI: 10.31857/S0233475524030015, EDN: csxfqk

ВВЕДЕНИЕ

Популярными моделями в исследовательских работах по изучению нормальной или патологической физиологии сердца человека являются мелкие грызуны — крысы и мыши [1, 2]. Главное преимущество использования грызунов заключается в сходстве с человеком анатомии сердца. Однако результаты работы на грызунах не всегда могут быть соотнесены с физиологией сердца человека. Отличительными особенностями физиологии сердца мелких грызунов являются высокая частота сердечных сокращений (ЧСС), мощный транзиторный выходящий ток I_{to} и медленно инактивирующийся K^+ -ток I_{Kslow} и отсутствие K^+ -токов задержанного выпрямления I_{Kr} и I_{Ks} [3–5]. Таким

образом, лабораторные грызуны обладают характерным электрофизиологическим профилем: короткий потенциал действия (ПД), сильно выраженная фаза начальной быстрой реполяризации и низкий потенциал фазы плато.

Пресноводная тропическая рыбка *Danio rerio* успешно используется как альтернатива млекопитающим в исследованиях процессов развития и тестирования фармакологических препаратов [6–10]. Экспериментальная работа с этим объектом обладает рядом преимуществ: короткий репродуктивный цикл, высокий уровень жизнеспособного потомства, оптическая транспарентность в эмбриональный период, а также дешевизна и простота содержания. Эмбрионы *D. rerio* достаточно малы для осуществления пассивной диффузии

кислорода во все ткани организма. Это дает шанс на развитие даже особям с тяжелейшими кардиальными нарушениями, в то время как зародыши млекопитающих стремительно гибнут.

Как и рыбка *Danio rerio*, к эктотермным животным относится другой модельный объект — лягушка. Электрофизиология сердца лягушки обладает сильно выраженной сезонной зависимостью [11–13]. Показано, что профиль ПД предсердных и желудочковых кардиомиоцитов и плотность K^+ -токов внутреннего выпрямления I_{K1} и I_{KACH} в большой степени меняются в зависимости от сезона [13]. Кроме того, в сердце лягушки не описан важнейший ток реполяризации I_{Kr} [14], а основным реполяризующим током является I_{Ks} [15–17].

Регистрация электрофизиологических процессов в сердце *D. rerio* осуществляется методами электрокардиографии, микроэлектродной техники, методами локальной фиксации потенциала и оптического картирования с использованием потенциал-чувствительных и кальций-чувствительных флуоресцентных красителей [18–22].

Сердце *Danio rerio*

Сердце — первый орган, который начинает функционировать у эмбриона *D. rerio*. Первые сердечные сокращения можно обнаружить уже через 24 ч после оплодотворения [23]. На этом этапе сердце представляет собой линейную трубку, состоящую из двух концентрических монослоев: внутреннего эндокарда и внешнего миокарда. К 48 ч после оплодотворения все предшественники миокарда инкорпорируются в сердце, которое уже сформировало петлю. На этой стадии четко различимы предсердие и желудочек, разделенные атриовентрикулярным каналом. В течение 3–5 дней после оплодотворения эпикард покрывает миокард [24–26], и трабекулярные кардиомиоциты появляются в результате отслоения стенки миокарда [27, 28]. Клапаны формируются в атриовентрикулярном канале и в выносящем тракте [29, 30]. Коронарная сосудистая система в сердце *D. rerio* развивается через несколько недель после оплодотворения, когда эндокардиальные клетки из атриовентрикулярного канала разрастаются по поверхности желудочка [31].

Примерно через 3 месяца после оплодотворения сердце *D. rerio* имеет диаметр около 1 мм. Сердце *D. rerio* двухкамерное, включает предсердие и желудочек, также выделяют венозный синус и луковичку аорты. Предсердие и желудочек состоят из миокарда, снаружи покрытого эпикардом, а изнутри — эндокардиальными клетками [32]. Стенка желудочка состоит из трех слоев

специализированного миокарда. Преобладающая губчатая мышечная ткань состоит из трабекул, радиально выступающих в просвет камеры. Тонкий слой кортикального миокарда толщиной от 2 до 4 клеток окружает трабекулярный слой. Монослой уплощенных кардиомиоцитов лежит на стыке между кортикальным и трабекулярным миокардом. Сердце взрослого животного сильно иннервировано [33] и васкуляризировано [32], имеет систему коронарных сосудов, которая снабжает кортикальный слой кислородом и питательными веществами [31]. Таким образом, несмотря на различия в размерах и его более простое устройство, гистологическая организация сердца *D. rerio* и млекопитающих схожа.

ЭКГ и потенциал действия

При анатомическом отличии сердца *D. rerio*, его функциональные характеристики, ЧСС и ЭКГ, близки к таковым человека [34, 35]. ЧСС *D. rerio* составляет примерно 120–130 ударов в минуту у взрослой рыбки и около 190 ударов в минуту у эмбрионов в возрасте 48 ч при температуре воды +28°C [18, 36–38]. По данным Schweizer и соавторов [38] в диапазоне температур воды от +18 до +30°C ЧСС эмбрионов *D. rerio* изменяется в пределах от 82.8 до 218.0 ударов в минуту.

Морфологические элементы ЭКГ *D. rerio* представлены Р-волной, QRS-комплексом и Т-волной [39]. Профиль ЭКГ *D. rerio* характеризуется высокой степенью сходства с ЭКГ человека [40] (рис. 1а). Однако при сравнении ЭКГ следует иметь в виду, что регистрация ЭКГ *D. rerio* происходит при значительно более низких температурах по сравнению с температурой человека [10]. По данным Liu и соавторов [41], интервалы PR, QRS и QT у взрослого животного при температуре воды +25°C составляют 63.5 ± 7.2 , 35.0 ± 3.3 и 282 ± 29 мс соответственно. Внутривентрикулярное введение хлорида калия вызывает аритмию с характеристиками, сходными с атриовентрикулярной блокадой у человека. Наблюдаются нерегулярные удлинения интервала RR, изменения длительности интервала PR, увеличение длительности комплекса QRS вместе с уменьшением положительного и увеличением отрицательного компонентов, удлинение или выпадение зубца Р. В некоторых работах показана инверсия Т-волны ЭКГ *D. rerio*, причем частота встречаемости инверсии сильно различается — от 5 до 97% случаев записи ЭКГ [37, 42–44]. Также негативная Т-волна регистрируется при криогенных и ампутационных повреждениях миокарда желудочка рыбки [41]. Более того, Т-волна может отсутствовать или регистрироваться

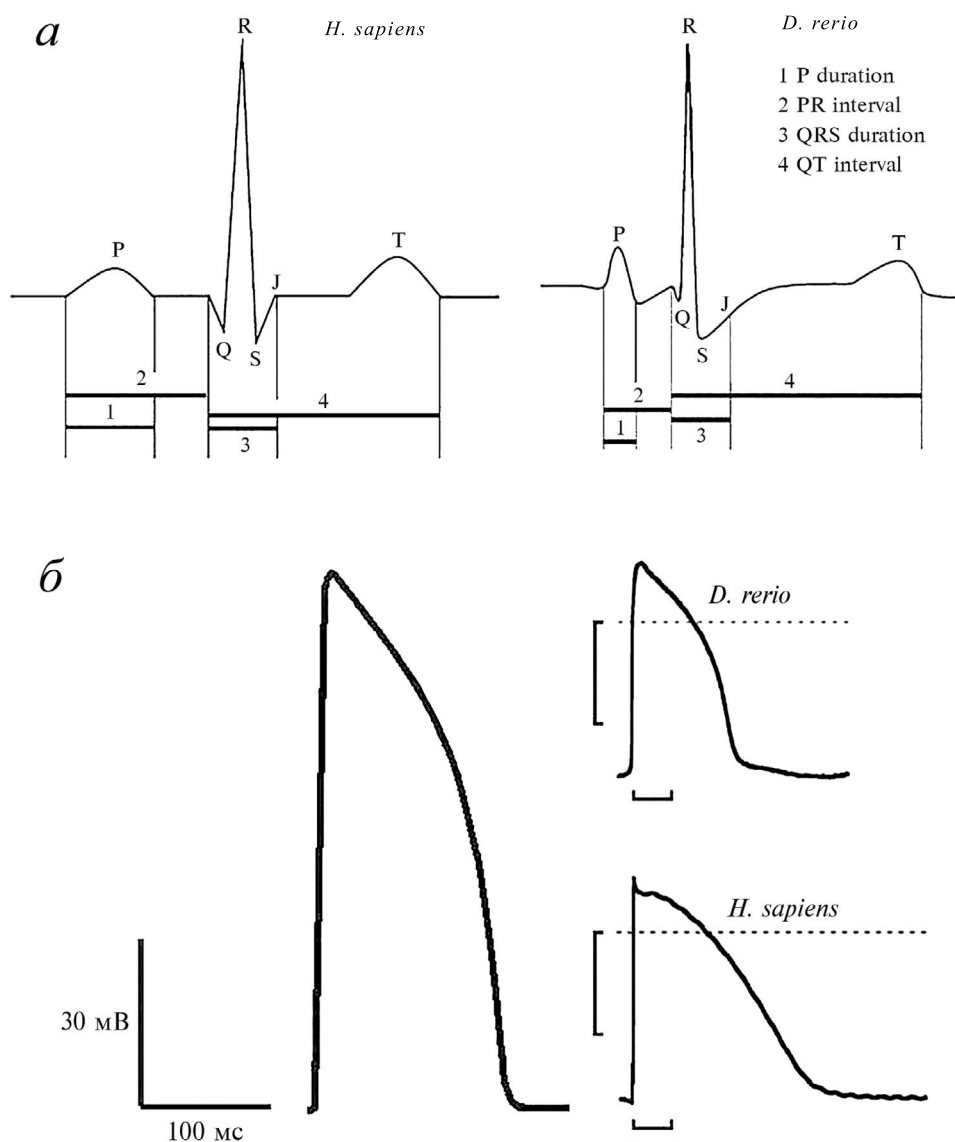


Рис. 1. *a* – Сравнение ЭКГ человека и *D. rerio* [48]. *б* – Пример записи ПД желудочкового кардиомиоцита в изолированном сердце *D. rerio* [19]. Сравнение ПД желудочковых кардиомиоцитов *D. rerio* и человека [97].

как положительная, так и отрицательная у одной и той же рыбки [44]. Инверсия зубца Т ЭКГ человека может быть нормой у детей и подростков вследствие доминирования правого желудочка или может быть связана с различными патологиями: ишемической болезнью сердца, гипертрофией миокарда правого желудочка и др. [45]. Что является нормой для рыбки, и связана ли полярность Т-волны с анатомией желудочка рыбки (трабекулярная структура миокарда затрудняет оценку

толщины стенки желудочка), на сегодняшний день является предметом дискуссии [43, 44].

Запись ЭКГ *D. rerio* выполняется с помощью игольчатых электродов, расположенных на вентральной поверхности в мышечной ткани на глубине 0.5–1 мм по средней линии или косо лево-каудально – право-краниально [39, 41, 46–48]. Положительный электрод в грудной области, отрицательный каудальнее в грудной или анальной области. Zhao и соавторы [42] использовали три варианта отведения ЭКГ с помощью трех

регистрирующих электродов в грудной области в вершинах воображаемого треугольника с геометрией подобной треугольнику Эйнтховена, но с полярностью противоположной той, что присутствует в расположении электродов в стандартных отведениях от конечностей человека. Сходство в профиле QRS-комплекса рыбки и человека авторы называют зеркальным, так как сонаправленность полярности зубцов наблюдается при разнонаправленности полярности электродов. В следующей работе Zhao и соавторы [43] с помощью четырех электродов в грудной области выполнили запись ЭКГ в двух отведениях одновременно, моделируя I и II отведения у человека, и показали, что электрическая ось сердца *D. rerio* имеет средний угол -69° в системе координат ЭКГ, т. е. представляет собой зеркальное отражение главной оси сердца человека (в среднем $+60^\circ$) относительно горизонтальной оси координат.

ЧСС *D. rerio* определяется работой синоатриального узла. Последний расположен в кольцевой структуре на венозном полюсе сердца, на границе между венозным синусом и предсердием, около синоатриального клапана [49–51]. Среднее время,

необходимое для возбуждения всего предсердия изолированного сердца *D. rerio*, составляет 20 ± 2 мс [10]. Задержка проведения в атриовентрикулярном канале составляет 47 ± 8 мс, после чего наступает возбуждение желудочка, причем сначала в апикальной области. Время активации желудочка примерно 14 ± 2 мс при спонтанной активности и 24 ± 3 мс при эктопической стимуляции.

Морфологически кардиомиоциты *D. rerio* представляют собой удлинённые клетки, существенно более узкие, чем рабочие клетки миокарда млекопитающих, и обладают меньшей электрической емкостью (рис. 2) [19, 52]. Кроме того, кардиомиоциты рыбок лишены Т-трубочек, что дополнительно способствует низкой электрической емкости мембраны. Однако, несмотря на отсутствие Т-трубочек, отношение электрической емкости клеточной мембраны к объему желудочковых миоцитов *D. rerio* составляет примерно 12 условных единиц [52], что близко по значению к кардиомиоцитам млекопитающих [53].

Мембранный потенциал покоя (МПП) изолированных желудочковых кардиомиоцитов *D. rerio* по разным данным составляет примерно от -70

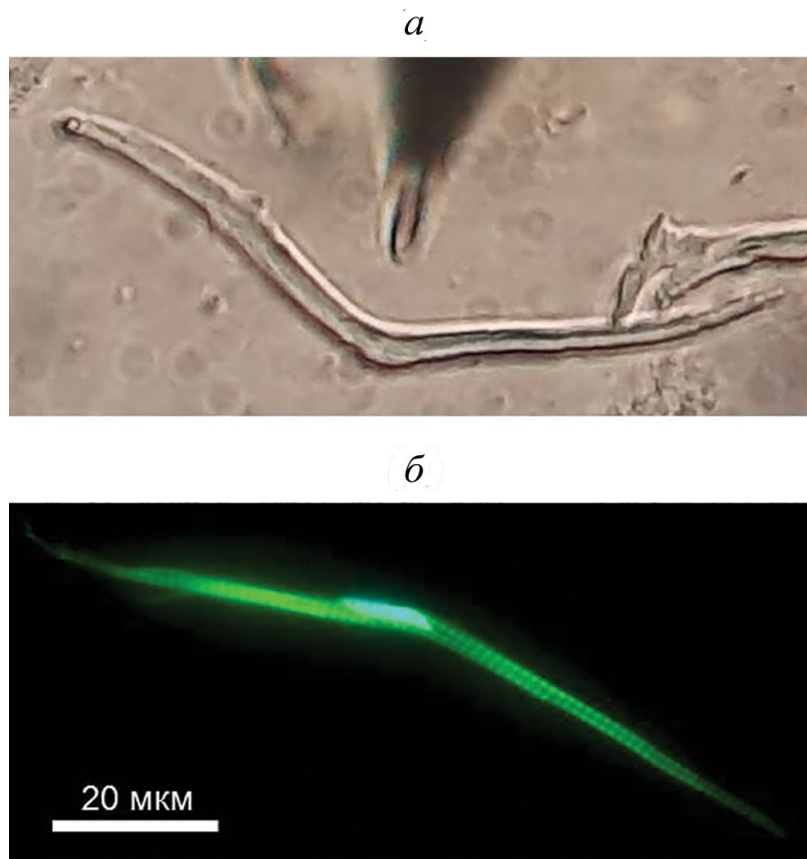


Рис. 2. *а* — Микрофотография в проходящем свете изолированного желудочкового кардиомиоцита *D. rerio*. *б* — Эпифлуоресцентная микрофотография актиновых филаментов желудочкового кардиомиоцита *D. rerio*, окрашенных фаллоидином-Alexa Fluor 488 (зеленый). Ядро окрашено DAPI (синий) [19].

до -80 мВ [18, 52, 54]. Brette и соавторы [52] регистрировали ПД в изолированных желудочковых кардиомиоцитах взрослых *D. rerio*. Электрическая емкость клеток составляла 26.0 ± 1.1 пФ. Длительность ПД на уровнях 25, 50 и 90% реполяризации при частоте стимуляции 0.1 Гц составляли 48 ± 14 , 112 ± 23 и 151 ± 30 мс соответственно. Увеличение частоты стимуляции до 2 Гц сопровождалось уменьшением длительности ПД. Авторы исследования подчеркивают, что профиль ПД близок к таковому крупных млекопитающих, в том числе человека. В ПД кардиомиоцитов сердца *D. rerio* присутствуют все фазы, за исключением начальной быстрой реполяризации, фазы 1. Наиболее важная черта сходства заключается в наличии хорошо выраженной фазы плато в желудочковых ПД *D. rerio* (рис. 1б), что выгодно отличает рыбку как модельный объект по сравнению с мелкими грызунами, у которых фаза плато отсутствует. Присутствие фазы плато проявляется на профиле ЭКГ в виде четко оформленного интервала QT [40, 55]. Вместе с тем имеется и некоторое отличие в морфологии ПД, отсутствие фазы начальной быстрой реполяризации, фазы 1 [18]. Ген *KCND3*, кодирующий субъединицу канала $K_{v4.3}$, был обнаружен в геноме *D. rerio* (табл. 1) [56], однако соответствующий ионный ток I_{to1} , отвечающий за развитие фазы 1, в кардиомиоцитах не регистрировался [18, 57]. $K_{v4.3}$ может присутствовать во внесердечных тканях, так как K^+ -ток А-типа, эквивалентный I_{to} кардиомиоцитов регистрировался в скелетных мышцах [58].

Nemtsas и соавторы [18] регистрировали ПД в предсердных и желудочковых миоцитах интактного изолированного сердца *D. rerio*. Анализ записей показал, что развитие деполяризации в клетках миокарда *D. rerio* происходит медленнее по сравнению с кардиомиоцитами млекопитающих. Авторы отмечают отсутствие начального спайка, характерного для ПД человека, наличие фазы плато и меньшую длительность ПД по сравнению с ПД кардиомиоцитов человека.

Реакция сердца *D. rerio* на действие различных фармакологических агентов сходна с реакцией сердца человека. Препараты, снижающие амплитуду желудочкового ПД или укорачивающие ПД человека, такие как тетродотоксин, лидокаин, нитрендипин или нифедипин, имеют сходные эффекты на желудочковые миоциты *D. rerio* [18, 57, 59]. Блокаторы каналов быстрой компоненты задержанного выпрямления hERG, такие как E4031 или терфенадин, увеличивают длительность ПД как в миоцитах сердца *D. rerio*, так и человека [18, 57].

Натриевый ток

Потенциал-зависимый Na^+ -ток I_{Na} входящего направления обуславливает развитие деполяризации мембраны в клетках возбудимых тканей [60, 61]. Наличие I_{Na} отмечается в миокарде как предсердия, так и желудочка сердца *D. rerio* (рис. 3а) [18, 19, 62]. В культуре кардиомиоцитов, выделенных из предсердия или желудочка, максимальные плотности I_{Na} при -30 мВ составляют 97.9 и 99.3 пА/пФ соответственно [62]. В работе Karpushev и соавторов [19] плотности I_{Na} при потенциале -35 мВ в свежely выделенных желудочковых миоцитах взрослых рыбок составляет 317.9 ± 34.6 пА/пФ. Потенциал половины максимальной стационарной инактивации ($V_{0.5i}$) I_{Na} несколько более отрицательный в миоцитах предсердия *D. rerio*, чем в клетках желудочка, -77.6 и -71.1 мВ соответственно. Соответствующие коэффициенты наклона графиков потенциал-зависимости стационарной инактивации 5.3 и 4.7 мВ. Смещение $V_{0.5i}$ в сторону гиперполяризации по отношению к МПП в миоцитах предсердий, по данным Nemtsas и соавторов [18], указывает на меньшую доступность Na^+ -каналов для активации при генерации ПД. В то же время коэффициенты наклона предполагают пониженную чувствительность к стационарной инактивации I_{Na} в предсердии по сравнению с желудочком [62]. По данным Furukawa и соавторов [63], биофизические характеристики I_{Na} в кардиомиоцитах *D. rerio* и человека сходны. В миоцитах предсердия *D. rerio* потенциал половины максимальной стационарной активации ($V_{0.5a}$) I_{Na} , максимальная проводимость I_{Na} и коэффициент наклона графика потенциал-зависимости стационарной активации составляют -39.1 ± 1.1 мВ, 0.55 ± 0.06 нСм/пФ и 5.9 ± 0.2 мВ соответственно. Для миоцитов желудочка эти параметры принимают значения -37.4 ± 2.3 мВ, 0.65 ± 0.03 нСм/пФ и 5.5 ± 0.2 мВ соответственно [63]. Как указывалось выше, нарастание деполяризации в рабочих клетках сердца *D. rerio* происходит значительно медленнее, чем в кардиомиоцитах человека, что, по мнению Nemtsas и соавторов [18], связано с меньшей плотностью I_{Na} . Однако на культуре кардиомиоцитов рыбки показано, что плотность I_{Na} не различается в клетках, выделенных из предсердия или желудочка. Вместе с тем активация Na^+ -каналов в предсердии происходит при более низких потенциалах по сравнению с желудочком [62].

Ортологами сердечной изоформы гена поробразующей субъединицы Na^+ -канала млекопитающих в сердце *D. rerio* являются гены *SCN5Laa* и *SCN5Lab* (табл. 1) [64]. Этим генам соответствуют каналы $Na_v1.5a$ и $Na_v1.5b$. Экспрессия этих

Таблица 1. Ионные токи, α-субъединицы и гены ионных каналов в кардиомиоцитах *D. rerio* и *H. sapiens*

Ионный ток	α-Субъединица	Ген	α-Субъединица	Ген
	<i>D. rerio</i>		<i>H. sapiens</i>	
I _{Na}	Na _v 1.5a Na _v 1.5b	<i>SCN5Laa</i> <i>SCN5Lab</i>	Na _v 1.5	<i>SCN5A</i>
I _{CaL}	Ca _v 1.2 (α1C) * Ca _v 1.3a (α1Da) Ca _v 1.3b (α1Db)	<i>CACNA1C</i> <i>CACNA1Da</i> <i>CACNA1Db</i>	Ca _v 1.2 (α1C) Ca _v 1.3 (α1D) **	<i>CACNA1C</i> <i>CACNA1D</i>
I _{CaT}	Ca _v 3.1 (α1G) * Ca _v 3.2a (α1Ha) Ca _v 3.2b (α1Hb)	<i>CACNA1G</i> <i>CACNA1Ha</i> <i>CACNA1Hb</i>	Ca _v 3.1 (α1G) ** Ca _v 3.2 (α1H) **	<i>CACNA1G</i> <i>CACNA1H</i>
I _{to}			K _v 1.4 K _v 4.2 K _v 4.3	<i>KCNA4</i> <i>KCND2</i> <i>KCND3</i>
I _{Kr}	K _v 11.2 (ERG2) K _v 11.1 (ERG1) K _v 11.1 (ERG1) K _v 11.3 (ERG3)	<i>KCNH6</i> <i>KCNH2a</i> <i>KCNH2b</i> <i>KCNH7</i>	K _v 11.1 (hERG1)	<i>KCNH2</i>
I _{Ks}	K _v 7.1	<i>KCNQ1</i>	K _v 7.1	<i>KCNQ1</i>
I _{Kur}			K _v 1.5 ***	<i>KCNA5</i>
I _{K1}	K _{ir} 2.4 **** K _{ir} 2.2a **** K _{ir} 2.2b K _{ir} 2.1a K _{ir} 2.1b K _{ir} 2.3	<i>KCNJ14</i> <i>KCNJ12a</i> <i>KCNJ12b</i> <i>KCNJ2a</i> <i>KCNJ2b</i> <i>KCNJ4</i>	K _{ir} 2.2 K _{ir} 2.1 K _{ir} 2.3	<i>KCNJ12</i> <i>KCNJ2</i> <i>KCNJ4</i>
I _{KATP}	K _{ir} 6.1 K _{ir} 6.2	<i>KCNJ12a</i>	K _{ir} 6.1 K _{ir} 6.2	<i>KCNJ8</i> <i>KCNJ11</i>
I _{KACH}	K _{ir} 3.1 K _{ir} 3.4	<i>KCNJ12B</i>	K _{ir} 3.1 (GIRK1) K _{ir} 3.4 (GIRK4)	<i>KCNJ3</i> <i>KCNJ5</i>
I _f	HCN4	<i>KCNJ2a</i>	HCN4***** HCN1 HCN2	<i>HCN4</i> <i>HCN1</i> <i>HCN2</i>
I _{NCX}	NCX1h	<i>KCNJ2b</i>	NCX1	<i>SLC8A1</i>
I _{K2p} *****	TWIK-1 (K _{2p} 1.1) TASK-1 (K _{2p} 3.1) TASK-3 (K _{2p} 9.1)	<i>KCNJ4</i>	TWIK-1 (K _{2p} 1.1) TASK-1 (K _{2p} 3.1)	<i>KCNK1</i> <i>KCNK3</i>
I _{KCa} *****	K _{Ca} 2.1 (SK1) K _{Ca} 2.2 (SK2) K _{Ca} 2.3 (SK3) K _{Ca} 1.1 (BK)	<i>KCNN1</i> <i>KCNN2</i> <i>KCNN3</i> <i>KCNMA1a</i> <i>KCNMA1b</i>	K _{Ca} 2.1 (SK1) K _{Ca} 2.2 (SK2) K _{Ca} 2.3 (SK3) K _{Ca} 1.1 (BK)	<i>KCNN1</i> <i>KCNN2</i> <i>KCNN3</i> <i>KCNMA1</i>

* Ca_v1.2 и Ca_v3.1 являются основными изоформами α-субъединиц Ca²⁺-каналов в сердце *D. rerio* [74].

** *CACNA1D* (Ca_v1.3), *CACNA1G* (Ca_v3.1) и *CACNA1H* (Ca_v3.2) экспрессируются в пейсмекерных клетках и проводящей системе сердца человека [73].

*** Ультрабыстрый ток I_{Kur} канала K_v1.5 обнаруживается у человека только в рабочих предсердных кардиомиоцитах [92].

**** K_{ir}2.4 и K_{ir}2.2a являются основными изоформами α-субъединиц каналов I_{K1} в сердце *D. rerio* [98].

***** HCN4 является основной изоформой HCN каналов в синоатриальном узле и других отделах проводящей системы сердца млекопитающих [110].

***** I_{K2p} и I_{KCa} в сердце *D. rerio* не обнаружены [93].

В аналогичной позиции у человека расположен остаток цистеина [67].

Кальциевые токи

Вход Ca^{2+} через плазматическую мембрану необходим для запуска сократительной функции клеток миокарда и контролируется потенциал-зависимыми Ca^{2+} -каналами. Различные протоколы стимуляции и использование фармакологических препаратов продемонстрировали, что I_{Ca} в предсердных и желудочковых миоцитах *D. rerio* представляет собой комбинацию Ni^{2+} -чувствительного I_{CaT} с низким порогом активации и высокопорогового нифедипин-чувствительного I_{CaL} (рис. 3б, 3в) [18, 19, 52, 68, 69]. Присутствие I_{Ca} в кардиомиоцитах эмбриона *D. rerio* показано с помощью блокатора NNC55–0396 [57].

В рабочем миокарде млекопитающих преобладающей изоформой Ca^{2+} -канала является $\text{Ca}_v1.2$, которая принадлежит к L-типу [70, 71]. Ca^{2+} -каналы T-типа экспрессируются в сердце плода, а в здоровом сердце взрослого человека их присутствие ограничено пейсмекерными клетками [72, 73]. В кардиомиоцитах *D. rerio* вход Ca^{2+} обеспечивается двумя изоформами: $\text{Ca}_v1.2$ и $\text{Ca}_v3.1$ (табл. 1), последняя принадлежит к T-типу [74]. Haverinen и соавторы [74] показали, преобладание генетической экспрессии изоформы $\text{Ca}_v3.1$, но более выраженную функциональную активность $\text{Ca}_v1.2$. В работе Karpushev и соавторов [19], напротив, зарегистрировано значительное преобладание I_{CaT} над I_{CaL} в желудочковых кардиомиоцитах с плотностями токов 7.4 ± 1.3 и 4.8 ± 0.7 пА/пФ соответственно.

Гены *CACNA1C* и *CACNA1G*, кодирующие субъединицы $\text{Ca}_v1.2$ и $\text{Ca}_v3.1$ соответственно, экспрессируются в одинаковой степени как в предсердии, так и в желудочке *D. rerio* [74]. Кроме того, в миокарде взрослых *D. rerio* показана экспрессия генов субъединиц каналов L-типа: $\text{Ca}_v1.1a$, $\text{Ca}_v1.1b$, $\text{Ca}_v1.3a$, $\text{Ca}_v1.3b$, $\text{Ca}_v1.4a$ и $\text{Ca}_v1.4b$, T-типа: $\text{Ca}_v3.2a$, $\text{Ca}_v3.2b$, $\text{Ca}_v3.3a$, $\text{Ca}_v3.3b$ и P/Q-, N- и R-типов: $\text{Ca}_v2.1a$, $\text{Ca}_v2.1b$, $\text{Ca}_v2.2a$, $\text{Ca}_v2.2b$, $\text{Ca}_v2.3a$, $\text{Ca}_v2.3b$ [74]. Однако уровень экспрессии этих изоформ на два-три порядка ниже, чем $\text{Ca}_v1.2$ и $\text{Ca}_v3.1$. Обнаружена экспрессия генов β -субъединиц: двух $\beta 2$ (*CACNB2a* и *CACNB2b*) и двух $\beta 4$ (*CACNB4a* и *CACNB4b*) [75, 76], а также $\alpha 2\delta$ -субъединицы *CACNA2D1a* [77].

В сердце *D. rerio* Ca^{2+} -каналы T-типа активируются при потенциале около -60 мВ, тогда как Ca^{2+} -каналы L-типа активируются при -40 мВ [18, 74]. I_{CaT} достигает пиковой плотности тока

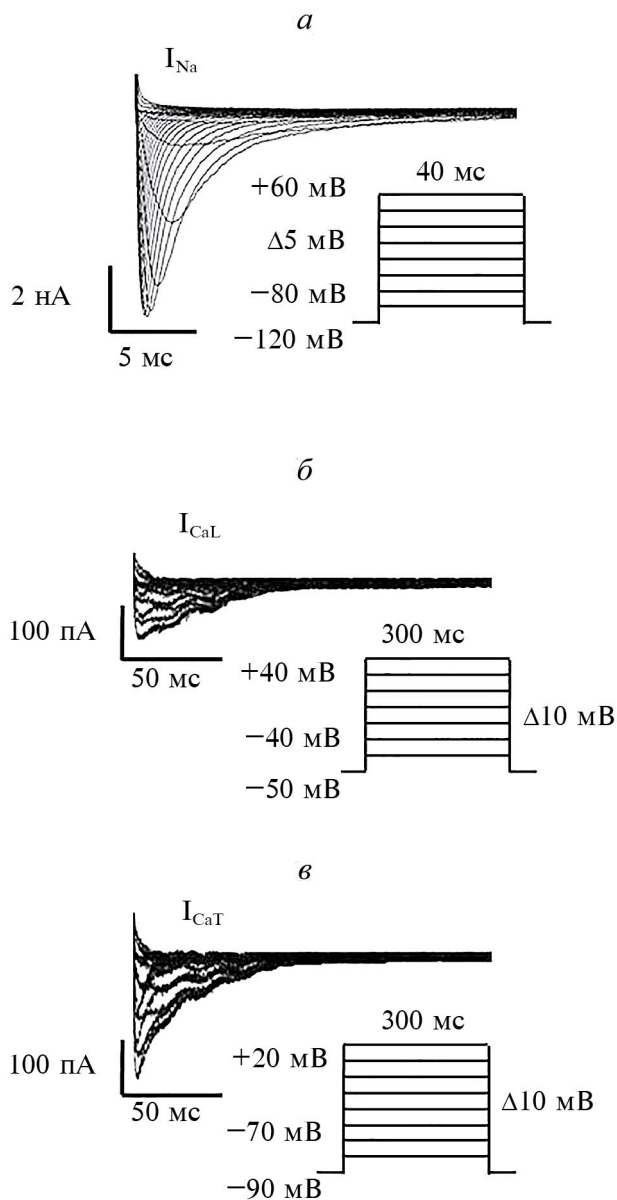


Рис. 3. Примеры записи потенциал-зависимых натриевого тока I_{Na} (а), кальциевых токов L-типа I_{CaL} (б) и T-типа I_{CaT} (в) в изолированных желудочковых кардиомиоцитах *D. rerio* [19]. На врезках протоколы подачи тестирующих стимулов.

генов меняется на разных стадиях развития *D. rerio*. В сердце эмбриона рыбки экспрессируются оба ортолога, в то время как в миокарде взрослого животного экспрессируется только *SCN5Lab* [65]. Отличительной особенностью Na^+ -канала *D. rerio* является высокая чувствительность к тетродотоксину [66]. Причину такого свойства обуславливает присутствие аминокислотного остатка тирозина Y401 в P-петле домена I α -субъединицы канала.

при -30 мВ, затем I_{CaL} достигает пиковой плотности тока при 0 мВ. Таким образом обеспечивается непрерывное присутствие деполяризующего I_{Ca} , противодействующего реполяризующему K^+ -току I_K . Баланс деполяризующего I_{Ca} и реполяризующего I_K формирует фазу плато ПД. Отмечается, что в сердце *D. rerio* I_{CaL} обеспечивает на 80% Ca^{2+} -транзист в отличие от кардиомиоцитов человека, где вклад I_{CaL} оценивается только в $20\text{--}25\%$ [71, 78].

Калиевые токи задержанного выпрямления

Быстрая компонента K^+ -тока задержанного выпрямления I_{Kr} является основным реполяризующим током в рабочих клетках миокарда предсердия и желудочка *D. rerio* (рис. 4а) [18, 62]. I_{Kr} регистрируется как в культуре эмбриональных кардиомиоцитов [68], так и в свежeweделенных миоцитах взрослых рыбок [18]. В сердце взрослых *D. rerio* блокатор I_{Kr} E4031 увеличивает длительность ПД миоцитов предсердия и желудочка [18] и интервала QT [37]. Эти наблюдения согласуются с данными, полученными на человеке [79]. Кроме того, E4031 уменьшает ЧСС, что предполагает участие I_{Kr} в пейсмекерной активности [37]. Подобный эффект наблюдается и в сердце млекопитающих [80, 81]. В сердце *D. rerio* I_{Kr} проводится каналом ERG2, субъединица которого кодируется геном *KCNH6*, а не каналом ERG1, гена *KCNH2*, как в сердце человека (табл. 1) [82–84]. Scholz и соавторы [85] проанализировали биофизические характеристики I_{Kr} с помощью гетерологической экспрессии в ооцитах *Xenopus* генов каналов ERG *D. rerio* и человека. По сравнению с ERG человека $V_{0.5a}$ канала рыбки сдвинуто в сторону более положительных потенциалов, а $V_{0.5i}$ сдвинуто в сторону более отрицательных потенциалов. Таким образом, активация ERG *D. rerio* несколько замедлена, тогда как деактивация значительно ускорена.

Кроме того, в сердце *D. rerio* обнаружена экспрессия генов *KCNH2A*, *KCNH2B* и *KCNH7* (табл. 1) [1]. Наличие гетерозиготной мутации в гене *KCNH2* *D. rerio* воспроизводит фенотип, подобный клиническому фенотипу синдрома длинного интервала QT (LQTS) человека [86, 87]. Фармакологические препараты, чье действие также заключается в удлинении интервала QT у человека, оказывают сходное действие на сердце эмбрионов *D. rerio*: увеличение длительности ПД, блок проведения в атриовентрикулярном соединении и замедление ЧСС [88, 89]. Таким образом, наличие I_{Kr} делает *D. rerio* удобной моделью для реконструкции LQTS [40].

Долгое время не удавалось обнаружить в сердце *D. rerio* медленную компоненту K^+ -тока задержанного выпрямления I_{Ks} [18]. Abramochkin и коллеги [90] смогли зарегистрировать I_{Ks} в свежeweделенных желудочковых кардиомиоцитах как ток, чувствительный к хроманолу 293В (рис. 4б). Апликация хроманола 293В на интактное сердце *D. rerio* увеличивает длительность ПД. В предсердии и желудочке *D. rerio* обнаружен транскрипт гена α -субъединицы канала $K_{v7.1}$ *KCNQ1* (табл. 1). Однако экспрессия гена *KCNE1*, кодирующего β -субъединицу minK на порядок ниже [90, 91]. Предполагается, что вследствие низкого уровня экспрессии *KCNE1*, канал $K_{v7.1}$ в кардиомиоцитах *D. rerio* формируется преимущественно без участия β -субъединицы minK, что объясняет более быструю, чем в сердце человека, кинетику I_{Ks} . В сердце человека, напротив, канал представляет собой комплекс субъединиц $K_{v7.1}$ и minK.

Ультрабыстрый K^+ -ток задержанного выпрямления I_{Kur} , генерируемый каналом $K_{v1.5}$, обнаруживается только в рабочих предсердных кардиомиоцитах человека, где он сильно выражен, но полностью отсутствует в желудочковых клетках [92]. I_{Kur} не обнаружен в сердце *D. rerio* [93].

Калиевый ток внутреннего выпрямления

K^+ -ток внутреннего выпрямления I_{K1} был обнаружен как Ba^{2+} -чувствительный ток в изолированных кардиомиоцитах *D. rerio* [18]. Присутствие I_{K1} показано в клетках миокарда предсердия и желудочка *D. rerio*, как и в сердце человека. Причем плотность I_{K1} примерно в 5 раз выше в желудочковых миоцитах, чем в предсердных, что также согласуется с данными, полученными на млекопитающих [94–96].

Наборы субъединиц каналов не идентичны у рыбки и млекопитающих. Поэтому Ravens [97] высказывает предположение, что *D. rerio* может не воспроизводить аритмии, связанные с определенными каналопатиями с участием каналов внутреннего выпрямления K_{ir} человека. В кардиомиоцитах *D. rerio* каналы образованы главным образом субъединицами $K_{ir2.4}$ и $K_{ir2.2a}$ [98], в то время как в миокарде человека преобладают $K_{ir2.1}$, $K_{ir2.2}$ и $K_{ir2.3}$ (табл. 1) [99, 100]. Кроме того, показана экспрессия в предсердии и желудочке *D. rerio* генов субъединиц $K_{ir2.1a}$, $K_{ir2.1b}$, $K_{ir2.2b}$ и $K_{ir2.3}$ [98]. Отмечается, что чувствительность каналов K_{ir2} рыбки к блокированию Ba^{2+} отличается от таковой у млекопитающих: $K_{ir2.4}$ на два порядка более чувствителен, в то время как $K_{ir2.1a}$ на порядок менее чувствителен [98].

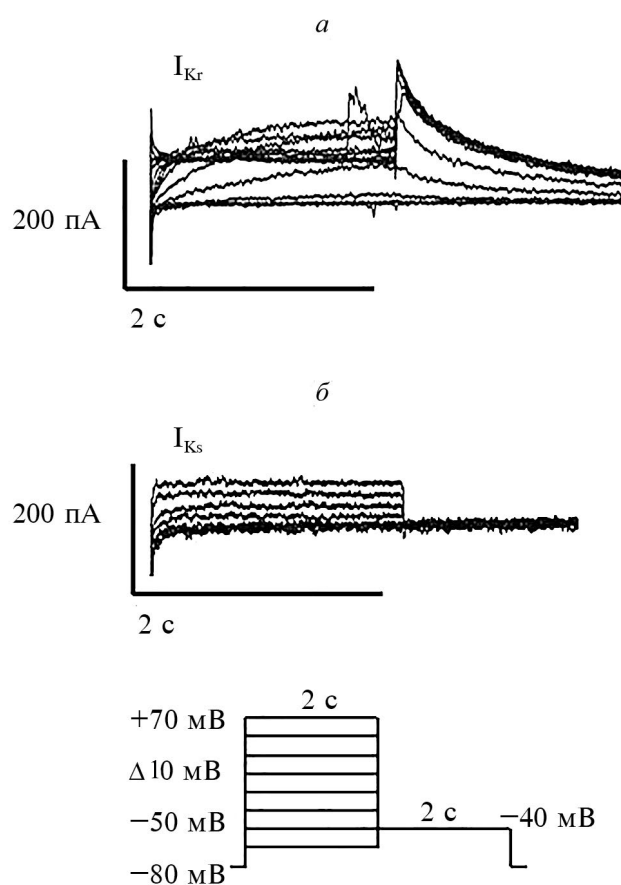


Рис. 4. Примеры записи калиевых токов задержанного выпрямления I_{Kr} (а) и I_{Ks} (б) в изолированных желудочковых кардиомиоцитах *D. rerio* [19]. На врезке протокол подачи тестирующих стимулов.

Лиганд-управляемые калиевые каналы

В миокарде предсердия и желудочка *D. rerio* показана экспрессия генов *KCNJ8* и *KCNJ11* (субъединицы $K_{ir}6.1$ и $K_{ir}6.2$), а также *ABCC9* (субъединицы SUR2A и SUR2B, рецептора сульфонилмочевины) (табл. 1) [101]. АТФ-чувствительный K^+ -ток внутреннего выпрямления I_{KATP} регистрируют в предсердных и желудочковых миоцитах. Этот ток генерируется каналами, образованными субъединицами $K_{ir}6.2$ и SUR2, в то время как функционально активные каналы гладкомышечных клеток сосудов образованы субъединицами $K_{ir}6.1$ и SUR2. Отмечается, что активаторы АТФ-чувствительных K^+ -каналов пинацидил, миноксидил и диазоксид не вызывают генерацию I_{KATP} в кардиомиоцитах *D. rerio* [101].

В кардиомиоцитах предсердия *D. rerio* показано наличие ацетилхолин-зависимого K^+ -тока внутреннего выпрямления I_{KACH} [18]. Skarsfeldt

и соавторы [93] обнаружили в сердце *D. rerio* экспрессию генов *KCNJ3* и *KCNJ5*, кодирующих I_{KACH} каналы $K_{ir}3.1$ и $K_{ir}3.4$ соответственно (табл. 1). Несмотря на экспрессию мРНК *KCNJ3* и *KCNJ5* в обеих камерах сердца, карбахол активирует I_{KACH} только в предсердных кардиомиоцитах или интактной предсердной ткани. Следовательно, как и в человеческом сердце, I_{KACH} , по-видимому, представляет собой предсердно-селективный ионный ток [102]. Активация I_{KACH} каналов уменьшает длительность ПД в предсердии *D. rerio* и замедляет ЧСС [93].

Пейсмекерный f-ток

Как и у млекопитающих, ЧСС у *D. rerio* контролируется активностью клеток водителя ритма [103]. Пейсмекерные клетки, экспрессирующие транскрипционный фактор *Isslet-1*, организованы в виде кольцевой структуры вокруг венозного полюса сердца, на границе между венозным синусом и предсердием около синоатриального клапана [104].

Пейсмекерный ток “funny” I_f или активируемый гиперполяризацией I_h был обнаружен в культуре кардиомиоцитов рыбки, причем как в миоцитах предсердия, так и желудочка [62]. Присутствие I_f в миокарде обеих камер сердца *D. rerio* контрастирует с данными у человека, где I_f в основном обнаруживается в клетках проводящей системы [105, 106], редко в предсердных миоцитах [107], а в желудочковых миоцитах — только при патологических состояниях, таких как сердечная недостаточность [108, 109]. Высказывается предположение о наличии двух разных ионных каналов, пропускающих I_f в сердце *D. rerio*, так как в пейсмекерном токе выделяют два компонента: медленный и быстрый.

Основной изоформой HCN каналов в синоатриальном узле и других отделах проводящей системы сердца млекопитающих является HCN4 [110]. Кроме того, присутствует экспрессия *HCN1* и *HCN2* [111, 112]. В сердце *D. rerio* экспрессируются *HCN4* и *HCN4L* — ортологи гена млекопитающих *HCN4* (табл. 1) [113]. Токи каналов HCN4 и HCN4L, реконструированных в ооцитах *Xenopus*, демонстрируют более быструю кинетику активации и положительный сдвиг потенциал-зависимости проводимости тока по сравнению с HCN4 человека [113].

Натрий-кальцевый обменник

Натрий-кальцевый обменник NCX является антипортером, основная функция которого сводится к выводу Ca^{2+} из клетки в обмен на вход Na^+

[114]. В зависимости от МПП и трансмембранного градиента Na^+ и Ca^{2+} NCX может выносить один ион Ca^{2+} наружу в обмен на транспорт трех ионов Na^+ внутрь клетки (прямой режим), либо наоборот выносить три иона Na^+ в обмен на один ион Ca^{2+} (обратный режим) [115]. У млекопитающих имеется три изоформы NCX, NCX1–3, из которых в сердце доминирует NCX1 [116, 117].

NCX1h представляет собой кардиоспецифичную изоформу NCX в сердце *D. rerio* [118, 119]. Уровень экспрессии и активность NCX в кардиомиоцитах *D. rerio* более высокие по сравнению с млекопитающими [120]. При деполяризации мембраны и повышении внутриклеточной концентрации $[\text{Na}^+]_i$ в цитозоле NCX в обратном режиме работы вместе с I_{Ca} запускает высвобождение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума (СР) [121, 122]. Роль NCX как проводника Ca^{2+} в клетку в обратном режиме работы возрастает при высокой частоте стимуляции, когда происходит снижение I_{Ca} и повышение $[\text{Na}^+]_i$ [120, 123]. В кардиомиоцитах рыб NCX важен для входа Ca^{2+} и активации сокращения при мембранных потенциалах выше +10 мВ [120]. В предсердных кардиомиоцитах форели показано, что продолжительные периоды деполяризации мембраны индуцируют загрузку СР Ca^{2+} , который постепенно истощается после блокирования NCX ингибитором обменника XIP (exchanger-inhibiting peptide) [123]. Блокирование NCX с помощью XIP также снижает сократимость сердца на 50%, указывая на заметную роль обратного режима работы NCX во входе наружного Ca^{2+} в кардиомиоциты рыб.

Мутация tremblor (tre) выключает функцию NCX1h, нарушает гомеостаз внутриклеточного Ca^{2+} и нормальный сердечный ритм [118]. Введение эмбрионам *D. rerio* с tre-мутацией мРНК NCX1h восстанавливает сердечный ритм, что свидетельствует о ключевой роли NCX1h в регуляции сердечной функции.

Калиевые каналы с двумя поровыми доменами

Калиевые каналы с двумя поровыми доменами $\text{K}_{2\text{P}}$, или каналы утечки, участвуют в формировании МПП во всех возбудимых клетках [124]. В геноме человека описано 15 генов каналов $\text{K}_{2\text{P}}$, разделенных на 6 подсемейств. В сердце человека преобладает экспрессия *KCNK1*, канал TWIK-1/ $\text{K}_{2\text{P}}1.1$, и *KCNK3*, канал TASK-1/ $\text{K}_{2\text{P}}3.1$. В сердце *D. rerio* показана экспрессия генов *KCNK3* и *KCNK9*, кодирующих субъединицы каналов TASK-1/ $\text{K}_{2\text{P}}3.1$ и TASK-3/ $\text{K}_{2\text{P}}9.1$, но соответствующие им ионные токи не обнаруживаются (табл. 1) [93]. Нокдаун генов *KCNK3a* и *KCNK3b* в эмбрионах *D. rerio*

вызывает развитие брадикардии и дилатацию предсердий [125]. Кроме того, в сердце *D. rerio* обнаружена экспрессия ортологов гена млекопитающих *KCNK1*, кодирующего субъединицу канала TWIK-1/ $\text{K}_{2\text{P}}1.1$ [126]. Нокдаун *KCNK1a* и *KCNK1b* у личинок *D. rerio* вызывает брадикардию и дилатацию предсердий.

Кальций-зависимые калиевые каналы

В миокарде млекопитающих присутствуют кальций-зависимые K^+ -каналы малой SK1–3 и промежуточной IK/SK4 проводимости [127]. Наличие этих каналов показано в предсердных, желудочковых миоцитах и в проводящей системе сердца, где они вовлечены в реполяризацию клеточной мембраны во время генерации ПД. В сердце *D. rerio* показана экспрессия генов *KCNN1*, *KCNN2* и *KCNN3*, кодирующих субъединицы каналов SK1/ $\text{K}_{\text{Ca}}2.1$, SK2/ $\text{K}_{\text{Ca}}2.2$ и SK3/ $\text{K}_{\text{Ca}}2.3$, но соответствующие им ионные токи не обнаружены (табл. 1) [93]. Кальций-зависимый K^+ -канал большой проводимости BK/ $\text{K}_{\text{Ca}}1.1$ находится на плазматической мембране нервных, скелетных мышечных волокон, гладкомышечных и эпителиальных клеток [128]. Любопытным исключением являются кардиомиоциты, у которых BK/ $\text{K}_{\text{Ca}}1.1$ отсутствует на поверхности клетки, но располагается на внутриклеточных мембранах, преимущественно в митохондриях [129, 130]. Pineda и соавторы [131] продемонстрировали субклеточную локализацию K^+ -канала большой проводимости $\text{K}_{\text{Ca}}1.1$ в сердце человека и мыши. В сердце *D. rerio* обнаружена экспрессия ортологов гена *KCNMA1*, кодирующего субъединицу канала $\text{K}_{\text{Ca}}1.1$ [132]. Нокдаун *KCNMA1b*, у эмбрионов *D. rerio* вызывает синусовую брадикардию, дилатацию и уменьшение сократимости предсердия и желудочка [131].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Имеющиеся на сегодняшний день литературные данные свидетельствуют о том, что сердце *D. rerio* обладает электрофизиологическими характеристиками, профилем ПД и паттерном ионных токов, позволяющими рассматривать его как релевантный модельный объект в биомедицинских исследованиях сердечной деятельности. При этом следует учитывать различия в составе белковых субъединиц ионных каналов, отсутствие I_{to} и I_{Kur} , наличие I_{CaT} и I_{f} в рабочих миоцитах. Перспективным направлением представляется широкое применение редактирования генома *D. rerio*, в том числе замена генов интереса *D. rerio* человеческими ортологами, т.е. гуманизация рыбок, с целью

реконструкции клинических фенотипов сердечно-сосудистых заболеваний человека с последующей функциональной оценкой биоэлектрической активности кардиомиоцитов электрофизиологическими методами.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 22-15-00186).

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Leong I.U.S., Skinner J.R., Shelling A.N., Love D.R. 2010. Identification and expression analysis of *kcnh2* genes in the zebrafish. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **396** (4), 817–824.
2. Genge C.E., Lin E., Lee L., Sheng X., Rayani K., Gunawan M., Stevens C.M., Li A.Y., Talab S.S., Claydon T.W., Hove-Madsen L., Tibbits G.F. 2016. The zebrafish heart as a model of mammalian cardiac function. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **171**, 99–136.
3. Derangeon M., Montnach J., Baró I., Charpentier F. 2012. Mouse models of SCN5A-related cardiac arrhythmias. *Front. Physiol.* **3**, 210.
4. Nerbonne J.M., Nichols C.G., Schwarz T.L., Escande D. 2002. Genetic manipulation of cardiac K^+ channel function in mice: What have we learned, and where do we go from here? *Circ. Res.* **89** (11), 944–956.
5. Kaese S., Verheule S. 2012. Cardiac electrophysiology in mice: A matter of size. *Front. Physiol.* **3**, 345.
6. Mittelstadt S.W., Hemenway C.L., Craig M.P., Hove J.R. 2008. Evaluation of zebrafish embryos as a model for assessing inhibition of hERG. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* **57** (2), 100–105.
7. Bakkers J. 2011. Zebrafish as a model to study cardiac development and human cardiac disease. *Cardiovasc. Res.* **91** (2), 279–288.
8. Dahme T., Katus H.A., Rottbauer W. 2009. Fishing for the genetic basis of cardiovascular disease. *Dis. Model. Mech.* **2** (1–2), 18–22.
9. Stainier D.Y., Fouquet B., Chen J.N., Warren K.S., Weinstein B.M., Meiler S.E., Mohideen M.A., Neuhauss S.C., Solnica-Krezel L., Schier A.F., Zwartkruis F., Stemple D.L., Malicki J., Driever W., Fishman M.C. 1996. Mutations affecting the formation and function of the cardiovascular system in the zebrafish embryo. *Development.* **123**, 285–292.
10. Verkerk A.O., Remme C.A. 2012. Zebrafish: A novel research tool for cardiac (patho)electrophysiology and ion channel disorders. *Front. Physiol.* **3**, 255.
11. Harri M.N., Talo A. 1975. Effect of season and temperature acclimation on the heart rate-temperature relationship in the isolated frog's heart (*Rana temporaria*). *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.* **52** (2), 409–412.
12. Chapovetsky V., Katz U. 2003. Effects of season and temperature acclimation on electrocardiogram and heart rate of toads. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* **134** (1), 77–83.
13. Abramochkin D., Kuzmin V. 2018. Electrophysiological differences in cholinergic signaling between the hearts of summer and winter frogs (*Rana temporaria*). *J. Comp. Physiol. B.* **188** (4), 649–656.
14. Abramochkin D.V., Filatova T.S., Pustovit K.B., Voronina Y.A., Kuzmin V.S., Vornanen M. 2022. Ionic currents underlying different patterns of electrical activity in working cardiac myocytes of mammals and non-mammalian vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* **268**, 111204.
15. Giles W.R., Shibata E.F. 1985. Voltage clamp of bullfrog cardiac pace-maker cells: A quantitative analysis of potassium currents. *J. Physiol.* **368**, 265–292.
16. Simmons M.A., Creazzo T., Hartzell H.C. 1986. A time-dependent and voltage-sensitive K^+ current in single cells from frog atrium. *J. Gen. Physiol.* **88** (6), 739–755.
17. Hume J.R., Giles W., Robinson K., Shibata E.F., Nathan R.D., Kanai K., Rasmusson R. 1986. A time- and voltage-dependent K^+ current in single cardiac cells from bullfrog atrium. *J. Gen. Physiol.* **88** (6), 777–798.
18. Nemtsas P., Wettwer E., Christ T., Weidinger G., Ravens U. 2010. Adult zebrafish heart as a model for human heart? An electrophysiological study. *J. Mol. Cell Cardiol.* **48** (1), 161–171.
19. Karpushev A.V., Mikhailova V.B., Klimenko E.S., Kulikov A.N., Ivkin D.Y., Kaschina E., Okovityi S.V. 2022. SGLT2 inhibitor empagliflozin modulates ion channels in adult zebrafish heart. *Int. J. Mol. Sci.* **23** (17), 9559.
20. Jou C.J., Spitzer K.W., Tristani-Firouzi M. 2010. Blebbistatin effectively uncouples the excitation-contraction process in zebrafish embryonic heart. *Cell Physiol. Biochem.* **25** (4–5), 419–424.
21. Panáková D., Werdich A.A., Macrae C.A. 2010. Wnt11 patterns a myocardial electrical gradient through regulation of the L-type Ca^{2+} channel. *Nature.* **466** (7308), 874–878.
22. Wythe J.D., Juryneć M.J., Urness L.D., Jones C.A., Sabeh M.K., Werdich A.A., Sato M., Yost H.J., Grunwald D.J., Macrae C.A., Li D.Y. 2011. Hap1, a newly identified pleckstrin homology domain protein, is required for cardiac contractility in zebrafish. *Dis. Model. Mech.* **4** (5), 607–621.
23. Kimmel C.B., Ballard W.W., Kimmel S.R., Ullmann B., Schilling T.F. 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev. Dyn.* **203** (3), 253–310.
24. Serluca F.C. 2008. Development of the proepicardial organ in the zebrafish. *Dev. Biol.* **315** (1), 18–27.

25. Peralta M., González-Rosa J.M., Marques I.J., Mercader N. 2014. The epicardium in the embryonic and adult zebrafish. *J. Dev. Biol.* **2** (2), 101–116.
26. Weinberger M., Simões F.C., Patient R., Sauka-Spengler T., Riley P.R. 2020. Functional heterogeneity within the developing zebrafish epicardium. *Dev. Cell.* **52** (5), 574–590.
27. Liu J., Bressan M., Hassel D., Huiskens J., Staudt D., Kikuchi K., Poss K.D., Mikawa T., Stainier D.Y. 2010. A dual role for ErbB2 signaling in cardiac trabeculation. *Development.* **137** (22), 3867–3875.
28. Staudt D.W., Liu J., Thorn K.S., Stuurman N., Liebling M., Stainier D.Y. 2014. High-resolution imaging of cardiomyocyte behavior reveals two distinct steps in ventricular trabeculation. *Development.* **141** (3), 585–593.
29. Beis D., Bartman T., Jin S.W., Scott I.C., D'Amico L.A., Ober E.A., Verkade H., Frantsve J., Field H.A., Wehman A., Baier H., Tallafuss A., Bally-Cuif L., Chen J.N., Stainier D.Y., Jungblut B. 2005. Genetic and cellular analyses of zebrafish atrioventricular cushion and valve development. *Development.* **132** (18), 4193–4204.
30. Scherz P.J., Huiskens J., Sahai-Hernandez P., Stainier D.Y. 2008. High-speed imaging of developing heart valves reveals interplay of morphogenesis and function. *Development.* **135** (6), 1179–1187.
31. Harrison M.R., Bussmann J., Huang Y., Zhao L., Osorio A., Burns C.G., Burns C.E., Sucov H.M., Siekmann A.F., Lien C.L. 2015. Chemokine-guided angiogenesis directs coronary vasculature formation in zebrafish. *Dev. Cell.* **33** (4), 442–454.
32. Hu N., Yost H.J., Clark E.B. 2001. Cardiac morphology and blood pressure in the adult zebrafish. *Anat. Rec.* **264** (1), 1–12.
33. Mahmoud A.I., O'Meara C.C., Gemberling M., Zhao L., Bryant D.M., Zheng R., Gannon J.B., Cai L., Choi W.Y., Egnaczyk G.F., Burns C.E., Burns C.G., MacRae C.A., Poss K.D., Lee R.T. 2015. Nerves regulate cardiomyocyte proliferation and heart regeneration. *Dev. Cell.* **34** (4), 387–399.
34. Pott A., Rottbauer W., Just S. 2014. Functional genomics in zebrafish as a tool to identify novel antiarrhythmic targets. *Curr. Med. Chem.* **21** (11), 1320–1329.
35. Wang L.W., Huttner I.G., Santiago C.F., Kesteven S.H., Yu Z.Y., Feneley M.P., Fatkin D. 2017. Standardized echocardiographic assessment of cardiac function in normal adult zebrafish and heart disease models. *Dis. Model Mech.* **10** (1), 63–76.
36. Barrionuevo W.R., Burggren W.W. 1999. O₂ consumption and heart rate in developing zebrafish (*Danio rerio*): Influence of temperature and ambient O₂. *Am. J. Physiol.* **276** (2), R505–R513.
37. Tsai C.T., Wu C.K., Chiang F.T., Tseng C.D., Lee J.K., Yu C.C., Wang Y.C., Lai L.P., Lin J.L., Hwang J.J. 2011. In-vitro recording of adult zebrafish heart electrocardiogram – a platform for pharmacological testing. *Clin. Chim. Acta.* **412** (21–22), 1963–1967.
38. Schweizer M., Dieterich A., Triebkorn R., Köhler H.R. 2017. Drifting away of a FET endpoint: The heart rate in *Danio rerio* embryos is extremely sensitive to variation in ambient temperature. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **99** (6), 684–689.
39. Milan D.J., Jones I.L., Ellinor P.T., MacRae C.A. 2006. In vivo recording of adult zebrafish electrocardiogram and assessment of drug-induced QT prolongation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **291** (1), H269–H273.
40. Leong I.U., Skinner J.R., Shelling A.N., Love D.R. 2010. Zebrafish as a model for long QT syndrome: The evidence and the means of manipulating zebrafish gene expression. *Acta Physiol. (Oxf).* **199** (3), 257–276.
41. Liu C.C., Li L., Lam Y.W., Siu C.W., Cheng S.H. 2016. Improvement of surface ECG recording in adult zebrafish reveals that the value of this model exceeds our expectation. *Sci. Rep.* **6**, 25073.
42. Zhao Y., James N.A., Beshay A.R., Chang E.E., Lin A., Bashar F., Wassily A., Nguyen B., Nguyen T.P. 2021. Adult zebrafish ventricular electrical gradients as tissue mechanisms of ECG patterns under baseline vs. oxidative stress. *Cardiovasc. Res.* **117** (8), 1891–1907.
43. Zhao Y., Chen C., Yun M., Issa T., Lin A., Nguyen T.P. 2021. Constructing adult zebrafish einthoven's triangle to define electrical heart axes. *Front. Physiol.* **12**, 708938.
44. Arel E., Rolland L., Thireau J., Torrente A.G., Bechard E., Bride J., Jopling C., Demion M., Le Guennec J.Y. 2022. The effect of hypothermia and osmotic shock on the electrocardiogram of adult zebrafish. *Biology (Basel).* **11** (4), 603.
45. D'Ascenzi F., Anselmi F., Adami P.E., Pelliccia A. 2020. Interpretation of T-wave inversion in physiological and pathological conditions: Current state and future perspectives. *Clin. Cardiol.* **43** (8), 827–833.
46. Sun P., Zhang Y., Yu F., Parks E., Lyman A., Wu Q., Ai L., Hu C.H., Zhou Q., Shung K., Lien C.L., Hsiai T.K. 2009. Micro-electrocardiograms to study post-ventricular amputation of zebrafish heart. *Ann. Biomed. Eng.* **37** (5), 890–901.
47. Lin M.H., Chou H.C., Chen Y.F., Liu W., Lee C.C., Liu L.Y., Chuang Y.J. 2018. Development of a rapid and economic in vivo electrocardiogram platform for cardiovascular drug assay and electrophysiology research in adult zebrafish. *Sci. Rep.* **8** (1), 15986.
48. Zhao Y., Yun M., Nguyen S.A., Tran M., Nguyen T.P. 2019. In vivo surface electrocardiography for adult zebrafish. *J. Vis. Exp.* **150**, 10.3791/60011.
49. Abu Nahia K., Migdał M., Quinn T.A., Poon K.L., Łapiński M., Sulej A., Liu J., Mondal S.S., Pawlak M., Bugajski Ł., Piwocka K., Brand T., Kohl P., Korzh V., Winata C. 2021. Genomic and physiological analyses of the zebrafish atrioventricular canal reveal

- molecular building blocks of the secondary pacemaker region. *Cell Mol. Life Sci.* **78** (19–20), 6669–6687.
50. Stoyek M.R., MacDonald E.A., Mantifel M., Bailie J.S., Selig B.M., Croll R.P., Smith F.M., Quinn T.A. 2022. Drivers of sinoatrial node automaticity in zebrafish: comparison with mechanisms of mammalian pacemaker function. *Front. Physiol.* **13**, 818122.
 51. Sedmera D., Reckova M., deAlmeida A., Sedmerova M., Biermann M., Volejnik J., Sarre A., Raddatz E., McCarthy R.A., Gourdie R.G., Thompson R.P. 2003. Functional and morphological evidence for a ventricular conduction system in zebrafish and *Xenopus* hearts. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **284** (4), H1152–H1160.
 52. Brette F., Luxan G., Cros C., Dixey H., Wilson C., Shiels H.A. 2008. Characterization of isolated ventricular myocytes from adult zebrafish (*Danio rerio*). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **374** (1), 143–146.
 53. Vornanen M., Shiels H.A., Farrell A.P. 2002. Plasticity of excitation-contraction coupling in fish cardiac myocytes. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* **132** (4), 827–846.
 54. Asimaki A., Kapoor S., Plovie E., Karin Arndt A., Adams E., Liu Z., James C.A., Judge D.P., Calkins H., Churko J., Wu J.C., MacRae C.A., Kléber A.G., Saffitz J.E. 2014. Identification of a new modulator of the intercalated disc in a zebrafish model of arrhythmic cardiomyopathy. *Sci. Transl. Med.* **6** (240), 240ra74.
 55. Yu F., Zhao Y., Gu J., Quigley K.L., Chi N.C., Tai Y.C., Hsiai T.K. 2012. Flexible microelectrode arrays to interface epicardial electrical signals with intracardiac calcium transients in zebrafish hearts. *Biomed. Microdevices.* **14** (2), 357–366.
 56. Lovering R.C., Roncaglia P., Howe D.G., Laulederkind S.J.F., Khodiyar V.K., Berardini T.Z., Tweedie S., Foulger R.E., Osumi-Sutherland D., Campbell N.H., Huntley R.P., Talmud P.J., Blake J.A., Breckenridge R., Riley P.R., Lambiase P.D., Elliott P.M., Clapp L., Tinker A., Hill D.P. 2018. Improving interpretation of cardiac phenotypes and enhancing discovery with expanded knowledge in the gene ontology. *Circ. Genom. Precis. Med.* **11** (2), e001813.
 57. Alday A., Alonso H., Gallego M., Urrutia J., Letamendia A., Collol C., Casis O. 2014. Ionic channels underlying the ventricular action potential in zebrafish embryo. *Pharmacol. Res.* **84**, 26–31.
 58. Coutts C.A., Patten S.A., Balt L.N., Ali D.W. 2006. Development of ionic currents of zebrafish slow and fast skeletal muscle fibers. *J. Neurobiol.* **66** (3), 220–235.
 59. Miranda M., Egaña J.T., Allende M.L., Eblen-Zajjur A. 2019. Myocardial monophasic action potential recorded by suction electrode for ionic current studies in zebrafish. *Zebrafish.* **16** (5), 427–433.
 60. Gosselin-Badaroudine P., Moreau A., Chahine M. 2014. Nav 1.5 mutations linked to dilated cardiomyopathy phenotypes: Is the gating pore current the missing link? *Channels (Austin).* **8** (1), 90–94.
 61. Rook M.B., Evers M.M., Vos M.A., Bierhuizen M.F. 2012. Biology of cardiac sodium channel Nav1.5 expression. *Cardiovasc. Res.* **93** (1), 12–23.
 62. Warren K.S., Baker K., Fishman M.C. 2001. The slow mo mutation reduces pacemaker current and heart rate in adult zebrafish. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **281** (4), H1711–H1719.
 63. Furukawa T., Koumi S., Sakakibara Y., Singer D.H., Jia H., Arentzen C.E., Backer C.L., Wasserstrom J.A. 1995. An analysis of lidocaine block of sodium current in isolated human atrial and ventricular myocytes. *J. Mol. Cell Cardiol.* **27** (2), 831–846.
 64. Novak A.E., Taylor A.D., Pineda R.H., Lasda E.L., Wright M.A., Ribera A.B. 2006. Embryonic and larval expression of zebrafish voltage-gated sodium channel alpha-subunit genes. *Dev. Dyn.* **235** (7), 1962–1973.
 65. Chopra S.S., Stroud D.M., Watanabe H., Bennett J.S., Burns C.G., Wells K.S., Yang T., Zhong T.P., Roden D.M. 2010. Voltage-gated sodium channels are required for heart development in zebrafish. *Circ. Res.* **106** (8), 1342–1350.
 66. Haverinen J., Hassinen M., Vornanen M. 2007. Fish cardiac sodium channels are tetrodotoxin sensitive. *Acta Physiol. (Oxf).* **191** (3), 197–204.
 67. Vornanen M., Hassinen M., Haverinen J. 2011. Tetrodotoxin sensitivity of the vertebrate cardiac Na⁺ current. *Mar. Drugs.* **9** (11), 2409–2422.
 68. Baker K., Warren K.S., Yellen G., Fishman M.C. 1997. Defective “pacemaker” current (I_h) in a zebrafish mutant with a slow heart rate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **94** (9), 4554–4559.
 69. Rottbauer W., Baker K., Wo Z.G., Mohideen M.A., Cantiello H.F., Fishman M.C. 2001. Growth and function of the embryonic heart depend upon the cardiac-specific L-type calcium channel alpha1 subunit. *Dev. Cell.* **1** (2), 265–275.
 70. McDonald T.F., Pelzer S., Trautwein W., Pelzer D.J. 1994. Regulation and modulation of calcium channels in cardiac, skeletal, and smooth muscle cells. *Physiol. Rev.* **74** (2), 365–507.
 71. Bers D.M. 2008. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Annu. Rev. Physiol.* **70**, 23–49.
 72. Vassort G., Talavera K., Alvarez J.L. 2006. Role of T-type Ca²⁺ channels in the heart. *Cell Calcium.* **40** (2), 205–220.
 73. Shah K., Seeley S., Schulz C., Fisher J., Gururaja Rao S. 2022. Calcium channels in the heart: Disease states and drugs. *Cells.* **11** (6), 943.
 74. Haverinen J., Hassinen M., Dash S.N., Vornanen M. 2018. Expression of calcium channel transcripts in the zebrafish heart: Dominance of T-type channels. *J. Exp. Biol.* **221** (Pt 10), jeb179226.
 75. Ebert A.M., McAnelly C.A., Srinivasan A., Linker J.L., Horne W.A., Garrity D.M. 2008. Ca²⁺ channel-independent requirement for MAGUK family

- CACNB4 genes in initiation of zebrafish epiboly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **105** (1), 198–203.
76. Chernyavskaya Y., Ebert A.M., Milligan E., Garrity D.M. 2012. Voltage-gated calcium channel CACNB2 ($\beta 2.1$) protein is required in the heart for control of cell proliferation and heart tube integrity. *Dev. Dyn.* **241** (4), 648–662.
 77. Howe K., Clark M.D., Torroja C.F., Torrance J., Berthelot C., Muffato M., Collins J.E., Humphray S., McLaren K., Matthews L., McLaren S., Sealy I., Caccamo M., Churcher C., Scott C., Barrett J.C., Koch R., Rauch G.J., White S., Chow W., Kilian B., Quintais L.T., Guerra-Assunção J.A., Zhou Y., Gu Y., Yen J., Vogel J.H., Eyre T., Redmond S., Banerjee R., Chi J., Fu B., Langley E., Maguire S.F., Laird G.K., Lloyd D., Kenyon E., Donaldson S., Sehra H., Almeida-King J., Loveland J., Trevanion S., Jones M., Quail M., Wiley D., Hunt A., Burton J., Sims S., McLay K., Plumb B., Davis J., Clee C., Oliver K., Clark R., Riddle C., Elliot D., Threadgold G., Harden G., Ware D., Begum S., Mortimore B., Kerry G., Heath P., Phillimore B., Tracey A., Corby N., Dunn M., Johnson C., Wood J., Clark S., Pelan S., Griffiths G., Smith M., Glithero R., Howden P., Barker N., Lloyd C., Stevens C., Harley J., Holt K., Panagiotidis G., Lovell J., Beasley H., Henderson C., Gordon D., Auger K., Wright D., Collins J., Raisin C., Dyer L., Leung K., Robertson L., Ambridge K., Leongamornlert D., McGuire S., Gilderthorp R., Griffiths C., Manthravadi D., Nichol S., Barker G., Whitehead S., Kay M., Brown J., Murnane C., Gray E., Humphries M., Sycamore N., Barker D., Saunders D., Wallis J., Babbage A., Hammond S., Mashreghi-Mohammadi M., Barr L., Martin S., Wray P., Ellington A., Matthews N., Ellwood M., Woodmansey R., Clark G., Cooper J., Tromans A., Grafham D., Skuce C., Pandian R., Andrews R., Harrison E., Kimberley A., Garnett J., Fooker N., Hall R., Garner P., Kelly D., Bird C., Palmer S., Gehring I., Berger A., Dooley C.M., Ersan-Ürün Z., Eser C., Geiger H., Geisler M., Karotki L., Kirn A., Konantz J., Konantz M., Oberländer M., Rudolph-Geiger S., Teucke M., Lanz C., Raddatz G., Osoegawa K., Zhu B., Rapp A., Widaa S., Langford C., Yang F., Schuster S.C., Carter N.P., Harrow J., Ning Z., Herrero J., Searle S.M., Enright A., Geisler R., Plasterk R.H., Lee C., Westerfield M., de Jong P.J., Zon L.I., Postlethwait J.H., Nüsslein-Volhard C., Hubbard T.J., Roest Crolius H., Rogers J., Stemple D.L. 2013. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*. **496** (7446), 498–503.
 78. Bovo E., Dvornikov A.V., Mazurek S.R., de Tombe P.P., Zima A.V. 2013. Mechanisms of Ca^{2+} handling in zebrafish ventricular myocytes. *Pflügers Arch.* **465** (12), 1775–1784.
 79. Jost N., Virág L., Bitay M., Takács J., Lengyel C., Biliczki P., Nagy Z., Bogáts G., Lathrop D.A., Papp J.G., Varró A. 2005. Restricting excessive cardiac action potential and QT prolongation: A vital role for IKs in human ventricular muscle. *Circulation*. **112** (10), 1392–1399.
 80. Wettwer E., Scholtysik G., Schaad A., Himmel H., Ravens U. 1991. Effects of the new class III antiarrhythmic drug E-4031 on myocardial contractility and electrophysiological parameters. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **17** (3), 480–487.
 81. Yang T., Tande P.M., Refsum H. 1991. Negative chronotropic effect of a novel class III antiarrhythmic drug, UK-68,798, devoid of beta-blocking action on isolated guinea-pig atria. *Br. J. Pharmacol.* **103** (2), 1417–1420.
 82. Schmitt N., Grunnet M., Olesen S.P. 2014. Cardiac potassium channel subtypes: New roles in repolarization and arrhythmia. *Physiol. Rev.* **94** (2), 609–653.
 83. Warmke J.W., Ganetzky B. 1994. A family of potassium channel genes related to eag in *Drosophila* and mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **91** (8), 3438–3442.
 84. Vornanen M., Hassinen M. 2016. Zebrafish heart as a model for human cardiac electrophysiology. *Channels (Austin)*. **10** (2), 101–110.
 85. Scholz E.P., Niemer N., Hassel D., Zitron E., Bürgers H.F., Bloehs R., Seyler C., Scherer D., Thomas D., Kathöfer S., Katus H.A., Rottbauer W.A., Karle C.A. 2009. Biophysical properties of zebrafish ether-à-go-go related gene potassium channels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **381** (2), 159–164.
 86. Arnaout R., Ferrer T., Huisken J., Spitzer K., Stainier D.Y., Tristani-Firouzi M., Chi N.C. 2007. Zebrafish model for human long QT syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **104** (27), 11316–11321.
 87. Hassel D., Scholz E.P., Trano N., Friedrich O., Just S., Meder B., Weiss D.L., Zitron E., Marquart S., Vogel B., Karle C.A., Seemann G., Fishman M.C., Katus H.A., Rottbauer W. 2008. Deficient zebrafish ether-à-go-go-related gene channel gating causes short-QT syndrome in zebrafish reggae mutants. *Circulation*. **117** (7), 866–875.
 88. Langheinrich U., Vacun G., Wagner T. 2003. Zebrafish embryos express an orthologue of HERG and are sensitive toward a range of QT-prolonging drugs inducing severe arrhythmia. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **193** (3), 370–382.
 89. Milan D.J., Peterson T.A., Ruskin J.N., Peterson R.T., MacRae C.A. 2003. Drugs that induce repolarization abnormalities cause bradycardia in zebrafish. *Circulation*. **107** (10), 1355–1358.
 90. Abramochkin D.V., Hassinen M., Vornanen M. 2018. Transcripts of Kv7.1 and MinK channels and slow delayed rectifier K^+ current (IKs) are expressed in zebrafish (*Danio rerio*) heart. *Pflügers Arch.* **470** (12), 1753–1764.
 91. Wu C., Sharma K., Laster K., Hersi M., Torres C., Lukas T.J., Moore E.J. 2014. Kcnq1-5 (Kv7.1-5) potassium channel expression in the adult zebrafish. *BMC Physiol.* **14**, 1.

92. Ravens U., Odening K.E. 2017. Atrial fibrillation: Therapeutic potential of atrial K⁺ channel blockers. *Pharmacol. Ther.* **176**, 13–21.
93. Skarsfeldt M.A., Bomholtz S.H., Lundegaard P.R., Lopez-Izquierdo A., Tristani-Firouzi M., Bentzen B.H. 2018. Atrium-specific ion channels in the zebrafish—A role of IKACH in atrial repolarization. *Acta Physiol. (Oxf)*. **223** (3), e13049.
94. Koumi S., Backer C.L., Arentzen C.E. 1995. Characterization of inwardly rectifying K⁺ channel in human cardiac myocytes. Alterations in channel behavior in myocytes isolated from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation*. **92** (2), 164–174.
95. Amos G.J., Wettwer E., Metzger F., Li Q., Himmel H.M., Ravens U. 1996. Differences between outward currents of human atrial and subepicardial ventricular myocytes. *J. Physiol.* **491**, 31–50.
96. Panama B.K., McLerie M., Lopatin A.N. 2007. Heterogeneity of IK1 in the mouse heart. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **293** (6), H3558–H3567.
97. Ravens U. 2018. Ionic basis of cardiac electrophysiology in zebrafish compared to human hearts. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **138**, 38–44.
98. Hassinen M., Haverinen J., Hardy M.E., Shiels H.A., Vornanen M. 2015. Inward rectifier potassium current (I_{K1}) and Kir2 composition of the zebrafish (*Danio rerio*) heart. *Pflügers Arch.* **467** (12), 2437–2446.
99. Gaborit N., Le Bouter S., Szuts V., Varro A., Escande D., Nattel S., Demolombe S. 2007. Regional and tissue specific transcript signatures of ion channel genes in the non-diseased human heart. *J. Physiol.* **582** (Pt 2), 675–693.
100. Hughes B.A., Kumar G., Yuan Y., Swaminathan A., Yan D., Sharma A., Plumley L., Yang-Feng T.L., Swaroop A. 2000. Cloning and functional expression of human retinal kir2.4, a pH-sensitive inwardly rectifying K⁺ channel. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **279** (3), C771–C784.
101. Singareddy S.S., Roessler H.I., McClenaghan C., Ikle J.M., Tryon R.C., van Haften G., Nichols C.G. 2022. ATP-sensitive potassium channels in zebrafish cardiac and vascular smooth muscle. *J. Physiol.* **600** (2), 299–312.
102. Anumonwo J.M., Lopatin A.N. 2010. Cardiac strong inward rectifier potassium channels. *J. Mol. Cell Cardiol.* **48** (1), 45–54.
103. Stoyek M.R., Quinn T.A., Croll R.P., Smith F.M. 2016. Zebrafish heart as a model to study the integrative autonomic control of pacemaker function. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **311** (3), H676–H688.
104. Tessadori F., van Weerd J.H., Burkhard S.B., Verkerk A.O., de Pater E., Boukens B.J., Vink A., Christoffels V.M., Bakkers J. 2012. Identification and functional characterization of cardiac pacemaker cells in zebrafish. *PLoS One*. **7** (10), e47644.
105. Verkerk A.O., Wilders R., van Borren M.M., Peters R.J., Broekhuis E., Lam K., Coronel R., de Bakker J.M., Tan H.L. 2007. Pacemaker current (I_p) in the human sinoatrial node. *Eur. Heart J.* **28** (20), 2472–2478.
106. Han W., Zhang L., Schram G., Nattel S. 2002. Properties of potassium currents in Purkinje cells of failing human hearts. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **283** (6), H2495–H2503.
107. Hoppe U.C., Beuckelmann D.J. 1998. Characterization of the hyperpolarization-activated inward current in isolated human atrial myocytes. *Cardiovasc. Res.* **38** (3), 788–801.
108. Cerbai E., Sartiani L., DePaoli P., Pino R., Maccherini M., Bizzarri F., DiCiolla F., Davoli G., Sani G., Mugelli A. 2001. The properties of the pacemaker current I_(F) in human ventricular myocytes are modulated by cardiac disease. *J. Mol. Cell Cardiol.* **33** (3), 441–448.
109. Fenske S., Mader R., Scharr A., Paparizos C., Cao-Ehlker X., Michalakakis S., Shaltiel L., Weidinger M., Stieber J., Feil S., Feil R., Hofmann F., Wahl-Schott C., Biel M. 2011. HCN3 contributes to the ventricular action potential waveform in the murine heart. *Circ. Res.* **109** (9), 1015–1023.
110. Herrmann S., Schnorr S., Ludwig A. 2015. HCN channels—modulators of cardiac and neuronal excitability. *Int. J. Mol. Sci.* **16** (1), 1429–1447.
111. Fenske S., Krause S.C., Hassan S.I., Becirovic E., Auer F., Bernard R., Kupatt C., Lange P., Ziegler T., Wotjak C.T., Zhang H., Hammelmann V., Paparizos C., Biel M., Wahl-Schott C.A. 2013. Sick sinus syndrome in HCN1-deficient mice. *Circulation*. **128** (24), 2585–2594.
112. Herrmann S., Layh B., Ludwig A. 2011. Novel insights into the distribution of cardiac HCN channels: an expression study in the mouse heart. *J. Mol. Cell Cardiol.* **51** (6), 997–1006.
113. Liu J., Kasuya G., Zempo B., Nakajo K. 2022. Two HCN4 channels play functional roles in the zebrafish heart. *Front. Physiol.* **13**, 901571.
114. van Opbergen C.J.M., van der Voorn S.M., Vos M.A., de Boer T.P., van Veen T.A.B. 2018. Cardiac Ca²⁺ signalling in zebrafish: Translation of findings to man. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **138**, 45–58.
115. Ottolia M., Torres N., Bridge J.H., Philipson K.D., Goldhaber J.I. 2013. Na/Ca exchange and contraction of the heart. *J. Mol. Cell Cardiol.* **61**, 28–33.
116. Shigekawa M., Iwamoto T. 2001. Cardiac Na⁺-Ca²⁺ exchange: Molecular and pharmacological aspects. *Circ. Res.* **88** (9), 864–876.
117. Khananshvili D. 2013. The SLC8 gene family of sodium-calcium exchangers (NCX) — structure, function, and regulation in health and disease. *Mol. Aspects Med.* **34** (2–3), 220–235.
118. Langenbacher A.D., Dong Y., Shu X., Choi J., Nicoll D.A., Goldhaber J.I., Philipson K.D., Chen J.N. 2005. Mutation in sodium-calcium exchanger 1 (NCX1) causes cardiac fibrillation in zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **102** (49), 17699–17704.

119. Chu L., Yin H., Gao L., Gao L., Xia Y., Zhang C., Chen Y., Liu T., Huang J., Boheler K.R., Zhou Y., Yang H.T. 2021. Cardiac Na^+ - Ca^{2+} exchanger 1 (ncx1h) is critical for the ventricular cardiomyocyte formation via regulating the expression levels of gata4 and hand2 in zebrafish. *Sci. China Life Sci.* **64** (2), 255–268.
120. Zhang P.C., Llach A., Sheng X.Y., Hove-Madsen L., Tibbits G.F. 2011. Calcium handling in zebrafish ventricular myocytes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **300** (1), R56–R66.
121. Birkedal R., Shiels H.A. 2007. High $[\text{Na}^+]_i$ in cardiomyocytes from rainbow trout. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **293** (2), R861–R866.
122. Hove-Madsen L., Llach A., Tibbits G.F., Tort L. 2003. Triggering of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release and contraction by reverse mode $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange in trout atrial myocytes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **284** (5), R1330–R1339.
123. Hove-Madsen L., Llach A., Tort L. 2000. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -exchange activity regulates contraction and SR Ca^{2+} content in rainbow trout atrial myocytes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **279** (5), R1856–R1864.
124. Wiedmann F., Frey N., Schmidt C. 2021. Two-pore-domain potassium (K2P-) channels: Cardiac expression patterns and disease-specific remodelling processes. *Cells*. **10** (11), 2914.
125. Liang B., Soka M., Christensen A.H., Olesen M.S., Larsen A.P., Knop F.K., Wang F., Nielsen J.B., Andersen M.N., Humphreys D., Mann S.A., Huttner I.G., Vandenberg J.I., Svendsen J.H., Haunsø S., Preiss T., Seeböhm G., Olesen S.P., Schmitt N., Fatkin D. 2014. Genetic variation in the two-pore domain potassium channel, TASK-1, may contribute to an atrial substrate for arrhythmogenesis. *J. Mol. Cell Cardiol.* **67**, 69–76.
126. Christensen A.H., Chatelain F.C., Huttner I.G., Olesen M.S., Soka M., Feliciangeli S., Horvat C., Santiago C.F., Vandenberg J.I., Schmitt N., Olesen S.P., Lesage F., Fatkin D. 2016. The two-pore domain potassium channel, TWIK-1, has a role in the regulation of heart rate and atrial size. *J. Mol. Cell Cardiol.* **97**, 24–35.
127. Weisbrod D. 2020. Small and intermediate calcium activated potassium channels in the heart: Role and strategies in the treatment of cardiovascular diseases. *Front. Physiol.* **11**, 590534.
128. Maqoud F., Cetrone M., Mele A., Tricarico D. 2017. Molecular structure and function of big calcium-activated potassium channels in skeletal muscle: Pharmacological perspectives. *Physiol. Genomics*. **49** (6), 306–317.
129. Singh H., Stefani E., Toro L. 2012. Intracellular BK_{Ca} (iBK_{Ca}) channels. *J. Physiol.* **590** (23), 5937–5947.
130. Kulawiak B., Szewczyk A. 2022. Current challenges of mitochondrial potassium channel research. *Front. Physiol.* **13**, 907015.
131. Pineda S., Nikolova-Krstevski V., Leimena C., Atkinson A.J., Altekoeester A.K., Cox C.D., Jacoby A., Huttner I.G., Ju Y.K., Soka M., Ohanian M., Trivedi G., Kalvakuri S., Birker K., Johnson R., Moenaar P., Kuchar D., Allen D.G., van Helden D.F., Harvey R.P., Hill A.P., Bodmer R., Vogler G., Dobrzynski H., Ocorr K., Fatkin D. 2021. conserved role of the large conductance calcium-activated potassium channel, KCa1.1 , in sinus node function and arrhythmia risk. *Circ. Genom. Precis. Med.* **14** (2), e003144.
132. Rohmann K.N., Deitcher D.L., Bass A.H. 2009. Calcium-activated potassium (BK) channels are encoded by duplicate slo1 genes in teleost fishes. *Mol. Biol. Evol.* **26** (7), 1509–1521.

Electrophysiology of the *Danio rerio* Heart

© 2024 г. **A. V. Karpushev^{1,*}, V. B. Mikhailova², A. A. Kostareva², B. S. Zhorov^{1,2}**

^a*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194223 Russia*

^b*Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, 197341 Russia*

*e-mail: akarpushev@yandex.ru

Tropical teleost fish *Danio rerio* is increasingly used as a model object for electrophysiological studies of human cardiac physiology and pathology. *D. rerio* is characterized by the similarity with humans in such functional parameters of the electrical activity of the heart as heart rate, action potential morphology, as well as in a set of ion currents depolarizing and repolarizing the cell membrane. *D. rerio* is easy to breed, easy to handle experimentally, and easy to genetically modify. This overview presents current data on the structural and functional organization of ion channels in *D. rerio* heart myocytes.

Keywords: *Danio rerio*, heart, cardiomyocyte, ion current, electrophysiology