

П.М. Шевчук, В.К. Рибальченко

Механізми генерації кальцієвих сигналів в екзокринних ацинарних клітинах

В обзорѣ представлены данные о механизмах генерации кальциевого сигнала в экзокринных ацинарных клетках. Описаны механизмы инозитол-1,4,5-трифосфат и Ca^{2+} -индуцированного высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо ацинарных клеток и механизмы поступления таких ионов из внеклеточной среды. Обсуждаются механизмы возникновения осцилляций концентрации внутриклеточного Ca^{2+} и их роль в секреции экзокринными клетками жидкости и ферментов.

Секреторні клітини шлунково-кишкового тракту мають складний комплекс мембранних рецепторів, через які здійснюється нейрогуморальна регуляція секреторної активності. Вплив нейромедiatorів і гормонів на секреторну клітину реалізується завдяки дії різних внутрішньоклітинних посередників. Нині актуальним є розуміння яким чином різні гормони або один і той же гормон в різних концентраціях можуть викликати подібні або протилежні зміни у функціонуванні секреторних клітин. В останні роки у цій галузі молекулярної фізіології досягнуто певних успіхів. Зокрема, сформовані уявлення про виникнення та регуляцію кальцієвого сигналу, що відіграє важливу роль у функціонуванні секреторної клітини.

Підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонізованого кальцію розглядають як кальцієвий сигнал, який викликає зміни мембранної проникності для іонів, що є необхідною умовою для вивільнення рідкої частини секрету, а також для екзоцитозу. Вивчення механізмів виникнення сигналу та його інформативності є однією з основних проблем молекулярної фізіології клітини.

У всіх клітинах іони кальцію як вторинний месенджер передають клітинним си-

стемам сигнали, які надходять у формі електричних імпульсів чи хімічних сполук на плазматичну мембрану. В зв'язку з цим важливим є регуляція внутрішньоклітинної концентрації вільного катіона. В цитозоль кальцій входить із ендоплазматичного ретикулула і із позаклітинного простору через кальцієві канали різного типу [6, 14, 15, 22]. Не менш важливим є розуміння процесів, які забезпечують швидке зменшення концентрації іонів кальцію в цитоплазмі. Ці процеси забезпечуються плазматичною мембраною, ендоплазматичним ретикулулом та мітохондріями завдяки кальцієвим помпам та натрій-кальцієвому обміну [5, 7, 10, 12, 13].

Регуляція внутрішньоклітинних процесів іонами кальцію у багатьох випадках зумовлена взаємодією кальцію з кальмодуліном. З'ясування ролі кальмодулінрегулювальних реакцій у секреторних клітинах при реалізації різних гормональних впливів є необхідною умовою вивчення молекулярних механізмів дії кальцієвого сигналу.

В екзокринних ацинарних клітинах важливу роль відіграє такий вторинний посередник, як циклічний гуанозинмонофосфат (цГМФ) [53]. Утворення цГМФ із ГТФ каталізується гуанілатциклазою. Цей фермент

виявлено не тільки у фракції плазматичних мембран, а й у фракції ендоплазматичного ретикулума, апарату Гольджі та клітинних ядер. Є і цитоплазматична гуанілатциклаза. На вміст цГМФ і активність гуанілатциклази в ацинарних клітинах впливають різні гормони, холінергічні речовини, катехоламіни, простагландини. Значення цГМФ у механізмах гормональної регуляції секреції ацинарними клітинами практично не вивчено.

Як внутрішньоклітинні посередники в стимуляції секреції екзокринних ацинарних клітин холецистокініном, бомбезином, гастринном, субстанцією Р, нейромедіаторами виступають іони кальцію. Вплив згаданих фізіологічно активних речовин на секреторні клітини супроводжується підвищенням внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію [77]. Регуляція внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} ацинарних клітин пов'язана з функціональною активністю багатьох структур як плазматичної мембрани, так і внутрішньоклітинних органел. У плазматичній мембрані клітини такими структурами є хемокеровані кальцієві канали, кальцій-залежні іонні канали, кальцієва помпа, Na^+ - Ca^{2+} -обмінник. У мембрані ендоплазматичного ретикулума - це інозитол-1,4,5-трифосфатчутливі кальцієві канали і канали Ca^{2+} -індукованого вивільнення Ca^{2+} із ретикулума. Активне захоплення іонів Ca^{2+} ендоплазматичним ретикулом здійснюється Са-АТФазою.

В останні п'ятнадцять років досягнуто значних успіхів в розробці експериментальних методів визначення концентрації вільного кальцію в цитоплазмі клітини. Це пов'язано, в першу чергу, з синтезом нових сполук, до складу яких входить кальційзв'язувальна група, близька за структурою до ЕГТА, і хромофор із заданими спектральними властивостями [52].

Такими методами виявлено, що концентрація вільного Ca^{2+} в плазмі ацинарних клітин підшлункової залози мишей становить $1,03 \times 10^{-7}$ моль/л. При стимуляції ацинарних клітин карбахолом або холецистокініном концентрація внутрішньоклітинного Ca^{2+} збіль-

шується до $1,3 \times 10^{-6}$ і $1,23 \times 10^{-6}$ моль/л відповідно [81]. Згідно з даними літератури [67], холецистокінін (0,1, 0,5 і 10 нмоль/л) викликає підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} в цитоплазмі ацинарних клітин підшлункової залози щурів від 155 до 228, 721 і 1185 нмоль/л.

Вимірювання внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} в навантажених квіном-2 ацинарних клітинах привушної слинної залози щурів виявило, що карбахол викликає швидке збільшення $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ в цитоплазмі від 199 ± 19 до 793 нмоль/л ± 157 нмоль/л, що вірогідно відображає інозитол-1,4,5-трифосфатопосередковане вивільнення Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо. Після максимального підвищення $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ відбувається зменшення його концентрації до 224 нмоль/л ± 11 нмоль/л [68].

Мобілізація іонів Ca^{2+} у багатьох клітинах включає взаємодію трьох різних типів білків плазматичної мембрани, а саме: рецептори, G_p -білки, фосфоліпаза С. Плазматична мембрана більшості клітин містить низку різних типів рецепторів, які у разі стимуляції відповідними агоністами викликають збільшення іонізованого кальцію в цитозолі [41]. Число рецепторів і їх афінність визначається відносною чутливістю клітини до агоніста, а також ступенем активації фосфоліпази С. Оскільки специфічний агоніст спроможний взаємодіяти з кількома різними підтипами рецепторів, а також може вбудовуватися в ліпідний матрикс мембрани (з урахуванням миготливої моделі її молекулярної організації), то специфічність передачі сигналу визначається природою і властивостями G-білків [4, 9, 14-16].

Виявлено, що в ацинарних клітинах підшлункової залози холецистокінінові та мускаринові ацетилхолінові рецептори функціонально спряжені з фосфоліпазою С та G-білками, які трансформують потік сигналів від рецепторів до клітини [72]. G-білки, які беруть участь у трансмембранній передачі сигналів, розташовані у внутрішньому моношарі плазматичної мембрани.

Структура G_p -білка-активатора фосфоінзитидспецифічної фосфоліпази С поки що не зрозуміла. Виходячи з точки зору біохімічної еволюції та враховуючи спорідненість трансдукцину, фактору елонгації синтезу білків і G -білків [1, 3], структурно-функціональні особливості останніх можна показати на прикладі G_s -білка-активатора аденілатциклази [1, 8, 49]. G_s -білок складається з трьох поліпептидів: α -ланцюг, який зв'язує і гідролізує ГТФ та активує білок-ефектор (аденілатциклазу) і міцний комплекс β і γ -ланцюгів, який локалізуючись у мембрані, утримує $G_s\alpha$ на внутрішньому боці плазматичної мембрани. В неактивній формі G_s існує як гетеротример, зі зв'язаною на α -субодиниці ГДФ. При активації лігандрецепторним комплексом ділянка зв'язування гуанілових нуклеотидів на G_s змінюється. Знижується спорідненість до ГДФ і підвищується до ГТФ. В результаті зв'язування ГТФ G_s -білок дисоціює на $G\beta\gamma$ і $G\alpha$ -ГТФ; останній, зв'язуючись з аденілатциклазою, активує синтез цАМФ. За час, який не перевищує 50 с, $G_s\alpha$ гідролізує ГТФ до ГДФ, комплекс $G_s\alpha$ -ГДФ від'єднується від аденілатциклази (синтез цАМФ припиняється) і асоціює з $G\beta\gamma$ з відновленням неактивної формули G_s -білка.

Різноманітність шляхів передачі активаційного сигналу в клітинах зумовлена існуванням як різних типів рецепторів, через які сигнал передається з поверхні клітини, так і ізоформ фосфоліпази С, що сприймає цей сигнал. Родина фосфоліпаз С представлена β і γ формами ферменту, які відрізняються за амінокислотною послідовністю, так і за способом взаємодії з рецептором. З рецепторами, спряженими з G -білками, взаємодіють фосфоліпази типу b [19, 25].

Згадані вище системи можуть підтримувати $[Ca^{2+}]_{in}$ на дуже низькому рівні (10^{-8} - 10^{-7} моль/л), а в період активності спричинити транзйентне збільшення концентрації таких іонів. У багатьох випадках такі транзйенти переходять в осциляції $[Ca^{2+}]_{in}$ [26, 27] - періодичні кальцієві спайки на фоні постійного вмісту $[Ca^{2+}]_{in}$. Такі осциляції

спостерігаються як у збудливих, так і в незбудливих клітинах у відповідь на дію різноманітних подразників і мають вигляд синусоподібних та транзиторних коливань.

Виникнення осциляцій зумовлено численними механізмами регуляції концентрації вільного кальцію у цитозолі [96].

В більшості випадків осциляції внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} мають період від 5 до 10 с, форма їх може варіювати від клітин до клітини і залежить від концентрації агоніста та вмісту іонів кальцію в позаклітинному середовищі [27]. Вони виявляються при дії інозитол-1,4,5-трифосфату на ацинарні клітини підшлункової залози мишей [74], в яких ацетилхолін (5×10^{-8} моль/л) викликає регулярні осциляції $[Ca^{2+}]_{in}$ від 100 нмоль/л до 300-800 нмоль/л [99].

Викликані холецистокініном (5-30 пмоль/л) осциляції $[Ca^{2+}]_{in}$ синхронні: збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} як у центрі клітини, так і в навколо мембранному просторі базолатеральної і апікальної частини ацинарної клітини підшлункової залози мишей відбуваються одночасно [54]. Згідно моделі Беріджа [29] постійна концентрація гормону або нейромедіатора викликає постійне підвищення концентрації інозитол-1,4,5-трифосфату, що призводить до вивільнення Ca^{2+} із одного з типів внутрішньоклітинного депо. Таке стійке вивільнення Ca^{2+} діє на депо різної природи для виклику набагато більшого вивільнення Ca^{2+} , яке в подальшому може через клітину поширюватися механізмом кальцій-індукованого вивільнення Ca^{2+} . В іншій моделі припускається, що при стимуляції агоністом рецептора відбувається обмежений гідроліз фосфатидилінозитол-4,5-біфосфату, що опосередковано інозитол-1,4,5-трифосфат-індукованим вивільненням Ca^{2+} чи утворенням діацилгліцеролу, які в свою чергу, активують протеїнкіназу С, що фосфорилує рецептор чи G -білок. Останнє призводить до пригнічення активності рецептора чи G -білка - шунтується гідроліз інозитол-4,5-біфосфату [24].

Одна з моделей передбачає, що фосфоліпаза С може активуватися не тільки агоністом, але й цитозольним Ca^{2+} . Початкова активація фосфоліпази С підсилюється, оскільки вивільнений Ca^{2+} під впливом інозитол-1,4,5-трифосфату буде збільшувати утворення інозитол-1,4,5-трифосфату. Після виснаження в депо запасу внутрішньоклітинного Ca^{2+} настає період повторного заповнення пулів і під впливом інозитол-1,4,5-трифосфату індукуються повторне вивільнення Ca^{2+} [66, 83].

Нині запропоновано підхід, який дає змогу на фоні синусоїдоподібних та транзиторних коливальних процесів виділити детерміновано хаотичну або стохастичну складову кальцієвого сигналу. Такий підхід застосовано для аналізу характеру осциляцій кальцієвого сигналу в екзокринних клітинах підшлункової залози мишей під дією ацетилхоліну, карбахолу та холецистокініну. Доведено, що характер коливань може значно відрізнятися як при дії нейромедіаторів і гормонів, які збуджують секрецію так і при дії різних їх концентрацій. Зокрема, в залежності від концентрації ацетилхоліну нерегулярний характер коливань зумовлений (або детермінований) стохастичним шумом. Зміна природи стимулятора у деяких випадках призводить до появи квазіперіодичних коливань [62, 87].

В ацинарних клітинах підшлункової залози кальцієвий сигнал у відповідь на дію агоніста інколи викликається з латентним періодом. В деяких клітинах кальцієвий сигнал у відповідь на дію агоніста зовсім не викликається. Це пояснюється тим, що не всі ацинарні клітини мають М-холінорецептори або рецептори холецистокінін-гастроїнової групи. Латентний період кальцієвого сигналу можна пояснити тим, що кальцій із клітини, в якій відбулося підвищення $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ передається в "не стимульовану" клітину через щільні контакти [2], викликаючи в ній підвищення $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ [36].

Індуковані агоністом осциляції $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ ініціюються в одній ацинарній клітині і пе-

ремщуються в сусідні клітини зі швидкістю від 6 до 25 $\mu\text{m}/\text{s}$ [58].

При використанні конфокальної лазерної мікроскопії виявлено, що стимуляція холецистокініном ацинарних клітин підшлункової залози мишей призводила до вивільнення іонів Ca^{2+} і наступного поширення кальцієвого сигналу в напрямку базолатеральної клітинної мембрани. Швидкість поширення кальцієвого сигналу залежить від концентрації агоніста. Так, холецистокінін в концентрації 20 $\mu\text{mol}/\text{l}$ (при такій концентрації активуються тільки високоафінні холецистокінінові рецептори) викликає кальцієвий сигнал, який поширюється із середньою швидкістю $7,78 \mu\text{m}/\text{s} \pm 0,51 \mu\text{m}/\text{s}$. Максимальна швидкість поширення кальцієвого сигналу відбувається при стимуляції ацинарних клітин 10 nmol/l холецистокініну (при такій концентрації активуються високо- і низькоафінні холецистокінінові рецептори) і становить $21,84 \mu\text{m}/\text{s} \pm 1,4 \mu\text{m}/\text{s}$ [50].

Швидкість поширення кальцієвих хвиль в ацинарних клітинах підшлункової залози мишей, викликаних 500 nmol/l ацетилхоліну варіює від 10,62 до 33,60 $\mu\text{m}/\text{s}$ і в середньому становить $17,3 \mu\text{m}/\text{s} \pm 5,4 \mu\text{m}/\text{s}$ [80]. Швидкість поширення кальцієвих хвиль, викликаних бомбезином (1 nmol/l) варіює від 3,90 до 11,79 $\mu\text{m}/\text{s}$ і в середньому становить $8,0 \mu\text{m}/\text{s} \pm 2,2 \mu\text{m}/\text{s}$. Ці показники не залежать від концентрації позаклітинного кальцію. Показано, що в безкальцієвому розчині з 1 mmol/l ЕГТА, викликані ацетилхоліном (500 nmol/l) чи бомбезином (1 nmol/l) кальцієві хвилі в ацинарних клітинах підшлункової залози мишей поширюються відповідно із середньою швидкістю $14,3 \pm 1,5$ чи $9,7 \mu\text{m}/\text{s} \pm 4,5 \mu\text{m}/\text{s}$, а за наявності 1,3 mmol/l Ca^{2+} в фізіологічному розчині - з $14,1 \pm 0,7$ чи $9,7 \mu\text{m}/\text{s} \pm 4,0 \mu\text{m}/\text{s}$ відповідно [80].

В ацинарних клітинах підшлункової залози щурів вклад в осциляції вноситься переважно іонами кальцію, що вивільнюється із внутрішньоклітинних депо, які розташовані поблизу клітинної мембрани.

Доведенням такого механізму є той факт, що інфузія Ca^{2+} в поодинокі клітини може викликати осциляції Ca^{2+} поблизу клітинної мембрани. Природа таких осциляцій подібна до осциляцій, що виникають при інфузії інозитол-1,4,5-трифосфату чи дії внутрішньоприкладеного в малих дозах ацетилхоліну [74]. Необхідно відмітити, що кальцій-індуковані осциляції пригнічуються при подальшій мобілізації Ca^{2+} [79]. Більше того, після збільшення концентрації іонізованого Ca^{2+} в цитозолі ацинарних клітин підшлункової залози через 10 с починається накопичення катіону в мітохондріях, яке пригнічується рутенієм червоним [51]. В ацинарних клітинах підшлункової залози щурів за накопиченням кальцію виявлено три окремі групи мітохондрій, які локалізовані поблизу плазматичної мембрани, навколо ядра, на периферії гранулярної ділянки [75].

Мембрана ендоплазматичного ретикулула містить кальцієві канали, які можуть відкриватися за певних умов і забезпечувати вивільнення накопиченого в депо кальцію до цитоплазми [94]. На даний час виявлено канали Ca^{2+} -індукованого та інозитол-1,4,5-трифосфат-індукованого вивільнення Ca^{2+} .

Роль механізму кальцій-індукованого вивільнення Ca^{2+} показано в дослідях з використанням блокатора кальцієвої помпи ендоплазматичного ретикулула тапсигаргіну на ацинарних клітинах привушної слинної залози: осциляції $[\text{Ca}^{2+}]_i$ спостерігаються без стимуляції утворення інозитол-1,4,5-трифосфату [47].

Вивчення інозитолфосфоліпідів і їх ролі у функціонуванні клітини почато дослідженнями [57], якими встановлено, що активація мускаринових холінергічних рецепторів екзокринних клітин підшлункової залози спричиняла збільшення обміну фосфатиділінозиту і фосфатидної кислоти [28]. Після взаємодії гормону з мембранними рецепторами сигнал передається через G-білок на фосфоліпазу C, яка гідролізує фосфатиділінозитол-4,5-біфосфат на інозитол-1,4,5-трифосфат і диацилгліцерол [28]. Розчинний у

воді інозитол-1,4,5- "едозитол-1,4,5-трифосфату вивільнює 20 іонів кальцію. В основі підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} під впливом інозитол-1,4,5-трифосфату лежить ефект відкриття кальцієвих каналів мембрани ендоплазматичного ретикулула [73]. Такі канали (інозитол-1,4,5-трифосфатрецептори) регулюються фосфорилуванням цАМФ-залежною протеїнкіназою, протеїнкіназою C і Ca^{2+} -кальмодулінзалежною протеїнкіназою C. Імуноцитохімічними методами показано, що ацинарні клітини експресують ріанодинові рецептори типу 1, 2 і 3 [45].

Канали інозитол-1,4,5-трифосфатіндукованого вивільнення Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулула гладеньких м'язів характеризуються малою провідністю (до 10 пСм) і блокуються гепарином [38]. Показано, що порівняно малі концентрації інозитол-1,4,5-трифосфату при ін'єкції його в ацинарну клітину підшлункової залози викликають вивільнення Ca^{2+} із секреторного пулу. Високі концентрації інозитол-1,4,5-трифосфату вивільнюють Ca^{2+} із базального пулу [46, 5]. Інозитол-1,4,5-трифосфат може активувати канали вивільнення Ca^{2+} не тільки ендоплазматичного ретикулула, але й інших органел, зокрема секреторних гранул і ядра [76, 78]. Зроблено висновок, що інозитол-1,4,5-трифосфатрецептори і ріанодинові рецептори органел екзокринних клітин можуть брати участь у формуванні регулярних кальцієвих хвиль, які розповсюджуються в клітинах у відповідь на стимуляцію агоністами [30, 78, 86].

Слід відмітити, що при стимуляції гормоном ацинарних клітин підшлункової залози окрім інозитол-1,4,5-трифосфату утворюється інозитол-1,2-циклічний 4,5-трифосфат [37]. Така речовина в деяких випадках також може індукувати вивільнення Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо ацинарних клітин [67]. Це підтверджується тим, що в деяких типах клітин, зокрема в гепатоцитах, інозитол-1,4,5-трифосфат індукує вивільнення лише 30-40 % вільного кальцію [32].

У досліджах на поперечносмугастих м'язах уперше було доведено, що кофеїн збільшує концентрацію іонів Ca^{2+} в цитозолі незалежно від наявності кальцію в позаклітинному середовищі [95]. Ендо та співр. [40] припустили, що кофеїн індукує вивільнення Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулула. Пізніше було доведено, що кофеїнчутливі внутрішньоклітинні кальцієві депо відіграють важливу роль у генерації кальцієвого сигналу в різних типах збудливих клітин. Такий тип викиду іонів Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо пов'язаний з активацією специфічних кальційчутливих каналів ендоплазматичного ретикулула. Поріг чутливості цих каналів до іонів кальцію знижується кофеїном до вмісту $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ у стані спокою. Механізм кальційіндукованого вивільнення Ca^{2+} дуже важливий у м'язових волокнах, де він стає тригером скорочення [42, 43] в сенсорних [70] та симпатичних нейронах [61].

В досліджах на ацинарних клітинах підшлункової залози собаки також доведено наявність кальційіндукованого вивільнення Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо [20, 21]. Наявність такого механізму вивільнення кальцію і тісного зв'язку між кальцієвими депо, що регулюються інозитол-1,4,5-трифосфатом і тими депо, що здійснюють кальційіндуковане вивільнення кальцію було показано завдяки застосуванню кофеїну, а також таких антагоністів кальційіндукованого вивільнення Ca^{2+} , як новокаїн [63], рутеній червоний [23]. На ацинарних клітинах підшлункової залози щурів виявлено, що кофеїн спроможний викликати субмаксимальну відповідь на інфузію Ca^{2+} , підвищує кальцієвий сигнал, що викликаний ацетилхоліном чи прямою активацією G-білка (внутрішньоклітинне введення GTP- γ -s) чи індукцією інозитол-1,4,5-трифосфату [74]. Такі канали ацинарних клітин мають провідність 50 пСм, їм притаманна потенціалзалежність. Повне відкриття каналу відбувається при 10 мВ. Кофеїн збільшує, а рутеній червоний зменшує вірогідність відкритого стану каналу [79].

Канал кальційіндукованого вивільнення Ca^{2+} є рיאнодиновим рецептором [88], тетрамер формує неселективну катіонну пору, активується мікромолярними і пригнічується мілімолярними концентраціями Ca^{2+} [39], безпосередньо регулюється цАДФ-рибозою [34, 48, 55, 92].

В досліджах на ацинарних клітинах підшлункової залози показано, що рיאнодин пригнічує виникнення осциляцій цитозольного кальцію на фоні дії ацетилхоліну та холецистокініну [78]. Під час безперервної стимуляції агоністами в субмаксимальній концентрації в ацинарних клітинах підшлункової залози вивільнюється лише частина секвестрованого в депо Ca^{2+} протягом перших секунд [68]. Подальше збільшення концентрації агоністів збільшує вивільнення Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо. Таке явище отримало назву квантованого вивільнення Ca^{2+} . Одна із моделей передбачає, що кальцієві депо мають різну чутливість до інозитол-1,4,5-трифосфату. Частина компартментів з високою чутливістю до месенджера вивільнює увесь Ca^{2+} при його дії в малих концентраціях. Частина депо з низькою чутливістю для вивільнення Ca^{2+} потребує високих концентрацій інозитол-1,4,5-трифосфату.

В іншій моделі припускається, що в результаті вивільнення Ca^{2+} зменшується його вміст в депо, що в свою чергу зменшує реактивність пулу до інозитол-1,4,5-трифосфату. Для вивільнення решти Ca^{2+} із депо необхідна більша концентрація інозитол-1,4,5-трифосфату [66]. Модель [44] вказує, що безперервна стимуляція інозитол-1,4,5-трифосфатом призводить до переходу каналу вивільнення Ca^{2+} із активного в неактивний стан незалежно від вмісту Ca^{2+} в пулі.

Індуковане лігандами вивільнення Ca^{2+} відбувається з двох немітохондріальних депо ацинарних клітин. Одне з них чутливе, інше - резистентне до інозитол-1,4,5-трифосфату. Висловлено припущення, що Ca^{2+} спочатку вивільнюється із інозитол-1,4,5-трифосфатчутливого депо, а збільшення $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ призводить до вивільнення Ca^{2+} із інозитол-1,4,5-

трифосфатнечутливого депо. В результаті це призводить до утворення кальцієвого сигналу, який хвилеподібно поширюється по всій екзокринній ацинарній клітині [29, 97].

Накопичення Ca^{2+} в інозитол-1,4,5-трифосфатчутливе депо екзокринних клітин здійснюється Н-АТФазою (помпою) і Ca^{2+} - H^+ -обмінником мембрани ендоплазматичного ретикулума. В інозитол-1,4,5-трифосфатнечутливе депо - за допомогою кальцієвої помпи [91]. Моноклональними антитілами і технікою клонування виявлено декілька ізоформ внутрішньоклітинних кальцієвих помп, які локалізовані в окремих депо. Їх активність пригнічується тапсигаргіном і 2,5-ди(t-бутил-1,4-бензогідроксіном - БГХ) [69]. Таке пригнічення БГХ спричиняє тимчасове збільшення $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ в пухлинних ацинарних клітинах лінії AR42 підшлункової залози і досить швидко пригнічує кальцієвий сигнал. Це означає, що під час генерації осциляцій $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ відбувається безперервна робота помп і кальцієвих каналів внутрішньоклітинних мембранних структур, що необхідно для безперервного заповнення пулів іонами Ca^{2+} [69].

Необхідно відмітити, що в стані спокою концентрація внутрішньоклітинного Ca^{2+} в екзокринних клітинах становить до 150 нмоль/л. Приблизно 99,9 % сумарного клітинного кальцію запасується клітинними органодами. Кальцієва ємність органодів залежить від кількості енергії, яка необхідна для транспорту кальцію через мембрани кальцієвими помпами. Буферна (енергонезалежна) дія клітинного Ca^{2+} залежить від зв'язування кальцію компонентами мембрани (кислі фосфоліпіди), метаболітами цитозолу (органічні речовини і неорганічні фосфати) та кальційзв'язувальними білками [84]. Більша частина кальцію запасується в ендоплазматичному ретикулумі ацинарних клітин завдяки кальційзв'язувальному білку, подібному кальсеквестрину саркоплазматичного ретикулума [35, 85, 98].

Важливим рецептором для іонів Ca^{2+} в цитозолі є кальційзв'язувальний регуляторний білок-кальмодулін. У цитозолі екзокрин-

них клітин його концентрація становить 30-50 мкмоль/л. Кожна молекула кальмодуліну має 4 локуси зв'язування Ca^{2+} з константою дисоціації порядку мікромолів. У стані спокою концентрація Ca^{2+} в цитозолі дуже низька (менше 10^{-7} моль/л) для помітного зв'язування з кальмодуліном. Коли ж концентрація збільшується до мікромольного рівня, Ca^{2+} зв'язується з кальмодуліном і стає мультифункціональним активатором [60].

Мішенями для кальцію в цитозолі є кальційзалежні ферменти, протеїнкіназа С, кальпаїни (нейтральні протеази, які безпосередньо активуються Ca^{2+}). Вони поширені серед різних типів клітин як в цитозольній, так і в мембранній формах і беруть участь в регуляції білків цитоскелета [64]. До кальційзв'язувальних білків відносять анексини, які взаємодіють з кислими фосфоліпазами мембрани при мікромольних концентраціях Ca^{2+} [33]. В нейтрофілах і моноцитах людини виявлено кальційзв'язувальні білки гранкальцин та кальгранулін А і В [90].

Накопичення Ca^{2+} у внутрішньоклітинних депо та вихід його через плазматичну мембрану запобігають надлишковому підвищенню $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ і відіграють важливу роль у здійсненні цитоплазматичних кальцієвих сигналів. При одночасному вимірюванні рецепторактивованих змін $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ в цитозолі і виходу Ca^{2+} із поодиноких клітин підшлункової залози щурів встановлено, що за викликанним ацетилхоліном підвищенням $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ в межах секунд настає збільшення концентрації Ca^{2+} в позаклітинному середовищі. Середня швидкість виходу Ca^{2+} через плазматичну мембрану ацинарної клітини в стані спокою становить $30 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$, а при стимуляції ацетилхоліном - $220 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$ і незмінюється при видаленні іонів натрію із зовнішнього середовища. Це означає, що Na^+ - Ca^{2+} -обмін відіграє незначну роль в процесі виходу Ca^{2+} через плазматичну мембрану ацинарних клітин підшлункової залози [93].

Надходження позаклітинного Ca^{2+} в цитозоль екзокринних клітин відіграє важливу роль у процесах транспорту рідини, особли-

во в період тривалої секреції. Проте надходження Ca^{2+} в екзокринні ацинарні клітини і фактори, які регулюють цей процес, мало вивчено. Показано, що AlF_4 подібно карбахолу активує надходження Ca^{2+} в дисперговані ацинуси привушної залози щурів. Такі дані свідчать, що в ацинарних клітинах слинної залози активація G-білка, вірогідно включається в стимуляцію шляхів надходження Ca^{2+} [65]. Виснаження внутрішньоклітинних депо в ацинарних клітинах привушної слинної залози спричиняє надходження Ca^{2+} в клітину із позаклітинного середовища [89].

Патні [82] ввів термін “емнісний” вхід іонів Ca^{2+} . Сигналом для його запуску є викликане інозитол-трифосфатом спустошення внутрішньоклітинного кальцієвого пулу. Трансмембранний вхід продовжується в міру виходу катіона із ендоплазматичного ретикулула і закінчується при наповненні внутрішньоклітинних депо кальцієм [30, 56].

Дослідниками доведено важливу роль іонів Ca^{2+} у регуляції деяких фундаментальних процесів у ядрах клітин. Зокрема, в ядрах клітин з печінки виявлено інозитол-1,4,5-трифосфатрецептори, системи синтезу інозитолтрифосфату [71]. Транспорт іонів Ca^{2+} в поодиноких ізольованих ядрах з клітин печінки мишей вивчається за допомогою кальційчутливих флуоресцентних барвників, використовуючи флуоресцентну та конфокальну мікроскопію. Встановлено, що ядра мають систему кальцієвих депо, розташованих в ядерній оболонці, звідки кальцій вивільнюється за допомогою інозитол-1,4,5-трифосфату та циклічної АДФ-рибози через відповідні рецептори, збільшуючи тимчасово локальний рівень іонів Ca^{2+} в нуклеоплазмі [48, 78].

Таким чином, в екзокринних ацинарних клітинах генерація кальцієвого сигналу, який відіграє важливу роль в запуску каскаду реакцій секреції рідини і ферментів, забезпечується механізмами інозитол-1,4,5-трифосфат - і кальцій-індукованого вивільнення Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо і механізмами надходження катіонів з позаклітинного середовища.

В останні роки існує тенденція доповнення сучасних поглядів на механізми взаємодії “ліганд-рецептор” за участю ліпідів [11, 15, 16-18].

P.N. Schevchuk, V.K. Rybalchenko

THE MECHANISMS OF GENERATION OF THE CALCIUM SIGNALS IN THE EXOCRINE ACINAR CELLS

Review. Modern data about mechanisms of generation of the calcium signals in the exocrine acinar cells are presented. The mechanisms of inositol-1,4,5-trisphosphate - and Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release from intracellular stores of the acinar cells and mechanisms their influx from extracellular medium are described. The mechanisms which initiate Ca^{2+} oscillations and their role in the secretion of the fluids and enzymes by acinar cells are discussed.

Research Institute of Physiology,

Taras Shevchenko Kiev University, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология клетки. - М.: Мир. - 1994. - Т.2. - 540 с.
2. Архипенко В. И., Маленкова А.Г. Структура и функции межклеточных контактов. - К.: Здоров'я. - 1989. - 168 с.
3. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов. - М.: Изд-во Моск. ун-та. - 1985. - 208 с.
4. Бичко А.В., Рибальченко В.К. Обгрунтування активної ролі ліпідного матриксу в структурі та функціях мембран клітини // Вісник Київ. ун-ту. “Проблеми регуляції фізіологічних функцій” - 2001. - Вип. 7. - С. 37 - 40.
5. Костерін С.А., Браткова Н.Ф., Бабич Л.Г. и др. Влияние ингибиторов энергозависимых Ca^{2+} -транспортирующих систем на кальциевые насосы гладкомышечной клетки // Укр. биохим. журн. - 1996. - 68, № 6. - С. 55-61.
6. Костюк П.Г. Кальций и клеточная возбудимость. - М. Наука. - 1986. - 254 с.
7. Курский М.Д., Костерин С.А., Воробец З.Д. Регуляция внутриклеточной концентрации кальция в мышцах. - К.: Наук.думка. - 1987. - 144 с.
8. Линдер М.Э., Гилман А. G-белки // В мире науки. - 1992. - Т. 9-10. - С. 22-30.
9. Островська Г.В., Поканевич В.В., Гарник Т.П. та ін. Мембранотропна активність фітопрепара-

- ту Поліфітол-1 // Вісник Київ. ун-ту. "Проблеми регуляції фізіологічних функцій" - 2001. - Вип. 7. - С. 41-44.
10. Погрібний П.В., Рыбальченко В.К., Кучеренко М.Є., Солдаткіна М.О. Активация кальмодуліном окситоцин чутливої Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФази і АТФ-залежного транспорту кальцію плазматичною мембраною гладком'язових клітин // Доп. АН. УРСР. Сер.Б. - 1987. - № 6. - С. 76-78.
 11. Рыбальченко В.К. "Липидная" гипотеза связывания окситоцина с плазматической мембраной гладкомышечной клетки // Докл. АН СССР. - 1990. - 314, № 4. - С. 984-987.
 12. Рыбальченко В.К. Ca^{2+} - насос в миоцитах тонкого кишечника // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1991. - 110, №4. - С. 376-377.
 13. Рыбальченко В.К. Натрий-кальциевый обмен в миоцитах тонкого кишечника // Там само. - С. 379-381.
 14. Рыбальченко В.К., Коганов М.М. Структура и функции мембран. - К.: Вища школа. - 1988. - 312 с.
 15. Рыбальченко В.К., Островська Г.В. Мембранотропна активність нейрогіпофізарних гормонів. - Луганськ: Елтон-2. - 1998. - 84 с.
 16. Рыбальченко Т.В., Гурняк О.М., Яблонська С.В., Рыбальченко В.К. Удосконалення рідинно-мозаїчної моделі молекулярної організації плазматичної мембрани // Вісник Київ. ун-ту. "Проблеми регуляції фізіологічних функцій". - 2001. - Вип.7. - С. 29-32.
 17. Рыбальченко Т.В., Островская Г.В., Кондрапюк Е.А. та ін. Безрецепторная межклеточная сигнализация // Нейрофизиология. - 2000. - 30, №3. - С. 281-282.
 18. Рыбальченко В.К., Островська Г.В., Порало І.В. та ін. Мембранотропна активність оптичних ізомерів нейропептиду кіоторфіна та кардіотонічного препарату суфан // Там само. - 1999. - 31, №3. - С. 266-269.
 19. Ткачук В.А. Фосфоинозитидный обмен и осциляция ионов Ca^{2+} // Биохимия. - 1998. - 63, Вып. 1. - С. 47-56.
 20. Шевчук П.Н., Магура И.С. Роль внутриклеточного Ca^{2+} -пула в механизме действия ацетилхолина на ацинарные клетки поджелудочной железы // Тез. докл. XV Всесоюз. конф. "Физиология пищеварения и всасывания". - Краснодар, 1990. - С. 311.
 21. Шевчук П.М., Магура І.С. Вплив кофеїну на електричні реакції ацинарних клітин підшлункової залози собаки // Фізіол.журн. - 1992. - Т. 38, № 1. - С. 51-57.
 22. Шуба М.Ф., Кочемасова Н.Г. Физиология сосудистых гладких мышц. - К.: Наук.думка. - 1988. - 247 с.
 23. Baylor S.M., Hollingworth S., Marshall M.W. Effects of intracellular ruthenium red on excitation-contraction coupling in intact frog skeletal muscle fibres // J.Physiol.- 1989.- 408.- P.671-685.
 24. Berridge M.J. Inositol trisphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers // Annu.Rev.Biochem.- 1987.- 56.- P.159-193.
 25. Berridge M.J. Inositol trisphosphate and calcium signalling // Nature.- 1993.- 315, № 6440. - P.315-325.
 26. Berridge M.J. Spatio-temporal aspects of calcium signalling // Prog.Biophys.Mol.Biol.- 1996.- 65, Suppl.1.- P.8.
 27. Berridge M.J., Gallone A. Cytosolic calcium oscillator // FASEB J.- 1988.- 2, № 12. - P.3074-3082.
 28. Berridge M.J., Irvin R.V. Inositol trisphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction // Nature.- 1984.- 312, № 5992.- P.315-318.
 29. Berridge M.J., Irvin R.V. Inositol phosphates and cells signaling // Ibid.- 1989. - 341, № 6238. - P.197-205.
 30. Broad L.M., Braun F.J., Livremont J.P., Bird G.S., Kurasaki T. and Putney J.W. Role of the phospholipase C-inositol-1,4,5-trisphosphate pathway in calcium current and capacitative calcium entry // J. Biol. Chem. - 2001. - 276, № 19. - P. 15945-15952.
 31. Burdakov D., Cancelli J.M., Petersen O.H. Bombesin-induced cytosolic Ca^{2+} -spining in pancreatic acinar cells depends on cyclic ADP-ribose and ryanodine receptors // Cell Calcium.-2001.- 29, N3.- P.211-216.
 32. Burgess J.M., Irvine R.F., Berridge M.J. et al. Action of inositol phosphates on Ca^{2+} -pools in guinea-pig hepatocytes // Biochem. J.- 1984.- 224, № 3. - P.741-746.
 33. Burgoyne R.D., Geisow M.J. The annexin family of calcium-binding proteins // Cell Calcium.- 1989.- 10, № 1. - P.1-10.
 34. Cancela J. Specific Ca^{2+} -signaling evoked by cholecystokinin and acetylcholine: the roles of NADP, cADPR and IP3 // Annu.Rev.Physiol.- 2001.- 63.- P.99-117.
 35. Damian E., Spanner C., Heilmann C. et al. Endoplasmic reticulum of rat liver contains proteins closely related to skeletal sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase and calsequestrin // J.Biol.Chem.- 1988.- 263, № 1. - P.340-343.
 36. Dissing S.T., Gromada J.I., Jorgensen N.K et al. Spatiotemporal aspects of Ca^{2+} -signaling in exocrine acinar cells // New in Physiol.Sci.- 1993.- 8.- P.103-111.
 37. Dixon J.F., Hokin L.E. Inositol 1,2-cyclic 4,5-trisphosphate in formed in the rat parotid gland on muscarinic stimulation // Biochem. Biophys. Res. Commun.. - 1987. - 149, № 4. - P. 1208-1213.
 38. Ehrlich B.E., Watras J. Inositol-1,4,5-trisphosphate activates a channel from smooth muscle sarcoplasmic reticulum // Nature. - 1988. - 336, № 6199. - P. 583-586.

39. Ehrlich B.E., Kaftan E., Bezprozvannaya S., Bezprozvannaya A. Bell-shaped calcium-response curves of $\text{ins}(1,4,5)\text{P}_3$ - and calcium-gated channels from endoplasmic reticulum of cerebellum // Trends Pharmacol.Sci.- 1994.- 15, № 3. - P.145-149.
40. Endo M., Tanaka M., Ogawa Y. Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibres // Nature.- 1970.- 228, № 5266.- P.34-36.
41. Exton J.H. Mechanisms of action of calcium mobilising agonists: some variations on a young theme // FASEB J.- 1988.- 2, № 10. - P.2670-2676.
42. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum // Amer. J.Physiol.- 1983.- 245, № 1, Pt 1. - P.C1-C14.
43. Fabiato A., Fabiato F. Use of chlortetracycline fluorescence to demonstrate Ca^{2+} from sarcoplasmic reticulum of skinned cardiac cells // Nature.- 1978.- 281, № 5638. - P.146-148.
44. Ferris C.D., Cameron A.M., Haganis R.L., Synder S.H. Quantal calcium release by purified reconstituted inositol-1,4,5-trisphosphate receptor // Nature (Lond.).- 1992.- 365, № 6358. - P.350-532.
45. Fitzsimmons T.J., Gukovsky I., McRoberts J.A. et al. Multiple isoforms of the ryanodine receptor are expressed in rat pancreatic acinar cells // Biochem.J.- 2000. - 351, Pt.1.- P.265-271.
46. Fogarty K.E., Kidd J.F., Tuft D.A., Thorn P. Mechanisms underlying insP_3 -evoked global Ca^{2+} signals in mouse pancreatic acinar cells // J.Physiol.- 2000.- 526, Pt.3.- P.515-526.
47. Foskett J.K., Roiegan C.M., Wonng D. Activation of calcium oscillations by thapsigargin in parotid acinar cells // J.Biol.Chem.- 1991.- 266, № 7. - P.2778-2782.
48. Gerasimenko O.V., Gerasimenko J.V., Tepikin A.V., Petersen O.H. ATP-dependent accumulation and inositol trisphosphate or cyclic ATP-ribose-mediated release of Ca^{2+} from nuclear envelope // Cell.- 1995.- 80, № 2. - P.439-444.
49. Gilman A.G. G-proteins and dual central of adenylate cyclase // Cell. - 1984. - 36, № 3. - P. 577-579.
50. Gonzalez A., Schmid A., Siegel G. et al. Control of Ca^{2+} -wave propagation in pancreatic acinar cells // Physiol. Res. - 1999. - 48. Suppl. 1. - P. S 5.
51. Gonzalez A., Schulz I., Schmidt A. Agonist-evoked mitochondrial Ca^{2+} signals in mouse pancreatic acinar cells // J. Biol. Chem. - 2000. - 275, № 49. - P. 38680-38686.
52. Grynkiewicz G., Poenie M., Tsien R. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties // Ibid. - 1985. - 260, № 6. - P. 3440-3450.
53. Gukovskaya A. and Pandol St. Nitric oxide production regulates cGMP formation and calcium in flux in pancreatic acinar cells // Amer. J. Physiol. - 1994. - 266, №3, Pt .1 - P. G 350-G356.
54. Habara V., Kanno T. Dose-dependency in spatial dynamics of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ in pancreatic acinar cells // Cell Calcium. - 1991. - 12, № 6. - P. 533-542.
55. Harmer A.R., Gallacher D.V., Smith P.M. Role of $\text{ins}(1,4,5)\text{P}_3$, cADF-ribose and nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate in Ca^{2+} -signaling mouse submandibular acinar cells // Biochem. J. - 2001. - 353, Pt. 3. - P. 555-560.
56. Holda J.R., Klishin A., Sedova M. et al. Capacitative calcium entry // New in Physiol. Sci. - 1998. - 13. - P. 157-163.
57. Hokin M.R., Hokin L.E. Effects of acetylcholine on phospholipids in the pancreas // J. Biol. Chem. - 1954. - 209, № 3. - P. 549-558.
58. Kasai H., Augustine G.I. Cytosolic Ca^{2+} gradients triggering unidirectional fluid secretion from exocrine pancreas // Nature. - 1990. - 348, № 6299. - P. 735-738.
59. Kasai H., Li Y.X., Miyashita Y. Subcellular distribution of Ca^{2+} release channels underlying Ca^{2+} -waves and oscillation in exocrine pancreas // Cell. - 1993. - 74, № 3. - P. 669-677.
60. Kennedy M.B. Regulation of neural function by calcium // Trend in Neurosci. - 1989. - 12, № 11. - P. 417-420.
61. Liptoscombe D., Madison D.V., Poenie M. et al. Imaging of cytosolic Ca^{2+} transients arising from Ca^{2+} stores and Ca^{2+} channels in sympathetic neurons // Neuron. - 1988. - 1. - P. 355-365.
62. Magura I.S., Strizhak P.E., Masyuk T.V. et al. The deterministic chaos in cytosolic calcium oscillations in pancreatic acinar cells and hepatocytes // Europ. J. Physiol. - 1995. - 430. Suppl., N 4 - P. R 90.
63. Martonosi A. Mechanisms of Ca^{2+} -release from sarcoplasmic reticulum of skeletal muscle // Physiol. Rev. - 1984. - 64, № 8 - P. 1240-1320.
64. Melloni E., Pontremoli S. The calpains // Trends in Neurosci. - 1989. - 12, № 11. - P. 438-444.
65. Mertz L.M., Horn V.J., Baum B.J., Ambudkar I.S. Calcium entry in rat parotid acini: activation by carbachol and aluminum fluoride // Amer. J. Physiol. - 1990. - 258, № 5, Pt. 1. - P. C654-C661.
66. Meyer T., Stryer L. Molecular model for receptor-stimulated calcium spiking // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1988. - 85, № 14. - P. 5051-5055.
67. Muallem Sh., Pandol Sh.J., Beeker J.G. Calcium mobilizing hormones activate the plasma membrane Ca^{2+} -pump of pancreas acinar cells // J. Membrane Biol. - 1988. - 106, № 1. - P. 57-69.
68. Muallem Sh., Pandol Sh.J., Beeker J.G. Calcium release from intracellular stores is a quantal process // J. Biol. Chem. - 1989. - 264, № 1. - P. 205-212.

69. Muallem Sh., Loesberg P., Sachs G., Wheeler L.A. Agonist-sensitive and insensitive intracellular Ca^{2+} -pools. Separate Ca^{2+} -releasing mechanisms revealed by monoalide and benzohydroquinone // *Biochem. J.* - 1991. - 279, № 2. - P. 367-375.
70. Neering I.R., McBurney R.N. Role of microsomal Ca storage in mammalian neurons // *Nature.* - 1984. - 309, № 5944. - P. 158-160.
71. Nicotera P., Orrenius S., Nilsson t., Berggren P.O. An inositol 1,4,5-trisphosphate-sensitive Ca^{2+} -pool in liver nuclei // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990. - 87, № 17. - P. 6858-6862.
72. Ong B.H., Ohsaga A., Sabo K. et al. G protein modulation of voltage-sensitive muscarinic receptor signalling in mouse pancreatic acinar cells // *Pflugers Arch.* - 2001. - 441, №5. - P. 604-610.
73. Osborne N.N., Tobin A.B., Ghazi H. Role of inositol-trisphosphate as a second messenger in signal transduction processes: an assay // *Neurochem. Res.* - 1988. - 12, № 3. - P. 117-191.
74. Osipchuk Y.Y., Wakui M., Yulle D.I. et al. Cytoplasmic Ca^{2+} oscillations evoked by receptor stimulation G-protein activation, internal application of inositol trisphosphate or Ca^{2+} : simultaneous microfluorimetry and Ca^{2+} -dependent Cl^- current recording in single pancreatic acinar cell // *EMBO J.* - 1990. - 9, № 3. - P. 697-704.
75. Park M.K., Ashby M.C., Erdemli g., Petersen O.H., Tepikin A.V. Perinuclear, perigranular and subplasmalemmal mitochondria have distinct functions in the regulation of cellular calcium transport // *Ibid.* - 2001. - 20, N 8. - P. 1863-1874.
76. Park M.K., Petersen O.H. and Tepikin A.V. The endoplasmic reticulum as one continuous Ca^{2+} pool: visualization of rapid Ca^{2+} movements and equilibration // *Ibid.* - 2000. - 19, № 21. - P.5729-5739.
77. Petersen O.H. Stimulus-secretion coupling: cytoplasmic calcium signals and the control of ion channels in exocrine acinar cells // *J. Physiol.* - 1992. - 448. - P. 1-51.
78. Petersen O.H. New aspects of cytosolic calcium signaling // *News Physiol. Sci.* - 1996. - 11. - P. 13-17.
79. Petersen O.H., Wakui M. Oscillating intracellular Ca^{2+} signals evoked by activation of receptors linked to inositol lipid hydrolysis mechanism of generation // *J. Membr. Biol.* - 1990. - 118, № 2. - P. 93-105.
80. Pfeiffer F., Lutz St., Schmid A., Schulz I. Control of Ca^{2+} wave propagation in mouse pancreatic acinar cells // *Amer. J. Physiol.* - 1998. - 274, № 5, Pt. 1. - P. 663-672.
81. Powers R.E., Johnson P.c., Houlihan M.J. et al. Intracellular Ca^{2+} levels and amylase secretion in quin-2-loaded mouse pancreatic acini // *Amer. J. Physiol.* - 1985. - 248, № 5, Pt. 1. - P. C535-C541.
82. Putney J. W. Capacitative Ca^{2+} entry revisited // *Cell calcium.* - 1990. - 11, № 6. - P. 611-624.
83. Rink T.J., Jacob R. Calcium oscillations in non-excitable cells // *Trends Neurosci.* - 1989. - 12, № 2. - P. 43-46.
84. Scharff O., Fober B. Regulation of cytosolic calcium in blood cells // *Physiol. Rev.* - 1993. - 73, № 3. - P. 547-582.
85. Stewart P.S., MacLennan D.H. Surface particles of sarcoplasmic reticulum membranes. Structural features of the adenosine trisphosphate // *J. Biol. Chem.* - 1974. - 249, № 3. - P. 985-993.
86. Straub S.V., Giovannucci D.R., Yule D.I. Calcium wave propagation in pancreatic acinar cells: functional interaction of inositol 1, 4, 5 -trisphosphate receptors, ryanodine receptors and mitochondria // *J. Gen. Physiol.* - 2000. - 116, №4. - P.547-560.
87. Strizhak P.E., Magura I.S., Yatsimirski K., Masyuk A.I. Return map approach to description of the deterministic chaos in cytosolic calcium oscillations // *J. Biol. Physics.* - 1995. - 21. - P. 233-239.
88. Sutko J.L., Ito K., Kenyon J.L. Ryanodine: a modifier of sarcoplasmic reticulum calcium release in striated muscle // *Fed. Proc.* - 1985. - 44, № 11. - P. 2984-2988.
89. Takemura H., Puthney J.W. Capacitative calcium entry in parotid acinar cells // *Biochem. J.* - 1989. - 258, № 2. - P. 409-412.
90. Teakan C.C., Totty N.F., Segal A.W. Isolation and characterization of grancalcium, a novel 28 kDa EF-hand calcium-binding protein from human neutrophils // *Ibid.* - 1992. - 286, № 2. - P. 549-554.
91. Thevenod F., Dehlinger-Kremer M., Kemmer Th. et al. Characterization of inositol 1,4,5-trisphosphate-sensitive (IsCaP) and insensitive (IisCap) nonmitochondrial Ca^{2+} pools in rat pancreas acinar cells // *J. Memb.* - 1989. - 109, № 2. - P. 173-186.
92. Thorn P., Petersen O.H. Calcium oscillations in pancreatic acinar cells evoked by the cholecystokinin, IMV-180, depend on functional inositol-1,4,5-trisphosphate receptors // *J. Biol. Chem.* - 1993. - 268, № 34 - P. 23219-23221.
93. Tepikin A.V., Voronina S.G., Gallacher D.V., Petersen O.H. Acetylcholine-evoked increase in the cytoplasmic Ca^{2+} extrusion measured simultaneously in single mouse pancreatic acinar cells // *Ibid.* - 1992. - 267, № 6. - P. 3569-3572.
94. Tsien R.W., Tsien R.Y. Calcium channels, stores and oscillations // *Annu. Rev. Cell. Biol.* - 1990. - 6. - P. 715-760.
95. Weber A., Herz R. The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum // *J. Gen. Phys.* - 1968. - 52, № 5. - P. 750-759.
96. Williams J. Interacellular signaling mechanisms activated by cholecystokinin-regulating synthesis

- and secretion of digestive enzymes in pancreatic acinar cells // Annu. Rev. Physiol.- 2001.- 63.- P.77-97.
97. Wu J., Kamimura N., Takeo T. et al. 2-aminoethoxydiphenyl borate modulates kinetics of intracellular Ca^{2+} signals mediated by inositol 1, 4, 5-trisphosphate-sensitive Ca^{2+} -stores in single pancreatic acinar cells of mouse // Mol. Pharmacol.- 2000.- 58, №6.- P.1368-1374.
98. Wuytack F., Raeymaekers L., Verbist J. et al. Smooth muscle endoplasmic reticulum contains a cardiac-like form of calsequestrin // Biophys. Acta. 1989. – 899, № 2. - P. 151-158.
99. Yulle D.I., Gallacher D.V. Oscillations of cytosolic calcium in single pancreatic acinar cell stimulated by acetylcholine // FEBS Letter. - 1988. – 239, № 2. - P. 358-362.

*Наук.-досл. ін-т фізіології Київ. нац. ун-ту
ім. Тараса Шевченка*

*Матеріал надійшов
до редакції 9.07.2001*