

УДК 612. 3: 591. 413.2

**ВЗАЄМОДІЯ  $\text{Ca}^{2+}$ -ТРАНСПОРТНИХ СИСТЕМ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ ТА МЕМБРАН ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИХ ДЕПО  $\text{Ca}^{2+}$  В АЦИНАРНИХ КЛІТИНАХ ПІДЩЕЛЕПНОЇ СЛИННОЇ ЗАЛОЗИ****Н. Гричан\*, О. Копач\*\*, Р. Макаровська\*\*\*, Н. Войтенко\*\*, Н. Федірко\****\*Львівський національний університет імені Івана Франка**вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна**e-mail: grychannatali@gmail.com**\*\*Інститут фізіології імені О.Богомольця НАН України**вул. Богомольця, 4, Київ 25001, Україна**\*\*\*Львівський обласний ендокринологічний диспансер**вул. Острозького, 1, Львів 79005, Україна*

Регуляція слиновиділення здійснюється підвищенням  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в ацинарних клітинах і регулюється за рахунок контролю просторово-часових характеристик  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -сигналізації. Останнє забезпечується узгодженням роботи  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортних систем плазматичної мембрани (ПМ) та мембран депо  $\text{Ca}^{2+}$  (ендоплазматичного ретикулулу (ЕПР) і мітохондрій (МХ)), проте механізми таких взаємодій вивчені недостатньо. Нами виявлено, що активація рецепторних систем ацинарних клітин призводить до перерозподілу вкладу  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортних систем у  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -сигналізацію (зміни активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз ПМ та ЕПР і депокезованого входу  $\text{Ca}^{2+}$ ). Причому ключову роль у забезпеченні взаємодії між різними  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортними системами у клітині відіграють МХ. Таким чином, описані явища є фізіологічним пристосувальним механізмом, у якому МХ виконують роль сенсора, котрий координує роботу  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортних систем різних субклітинних структур і запобігає цитотоксичному ефектові переваження клітин  $\text{Ca}^{2+}$  та спустошення депо цього катіона.

*Ключові слова:* підщелепна слинна залоза, ацинарні клітини,  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаз, плазматична мембрана, внутрішньоклітинні депо  $\text{Ca}^{2+}$ .

Слина є важливим фактором підтримання здорового стану органів ротової порожнини, оскільки характеризується бактерицидною, антивірусною й антигрибковою активністю [9, 39]. Ацинарні клітини підщелепної слинної залози є основним джерелом рідкої слини, збагаченої електролітами, ферментами та біологічно активними речовинами [30]. Зокрема, секреція рідкого компоненту слини ацинарними клітинами підщелепної слинної залози перебуває виключно під холінергічним контролем, який реалізується шляхом підвищення концентрації іонізованого  $\text{Ca}^{2+}$  у цитоплазмі клітин [30, 34]. У секреторних клітинах основним механізмом підвищення  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  є його вивільнення із внутрішньоклітинних депо, зокрема з ЕПР та, як наслідок, активації надходження  $\text{Ca}^{2+}$  ззовні [34]. Здатність  $\text{Ca}^{2+}$  виконувати роль внутрішньоклітинного месенджера й активувати секрецію зумовлена існуванням  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортних систем, які забезпечують підтримання низького рівня  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  у цитоплазмі та відносно високого рівня концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в системі депонуючих органел (ЕПР, МХ, комплекс Гольджі, ядро). Необхідно також зазначити, що порушення  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу в цих органелах може призводити до порушення синтезу секреторних білків, їх шаперонінгу та досягання в ЕПР [38]. Тому вивчення

ролі різноманітних  $\text{Ca}^{2+}$ -регуляторних механізмів і  $\text{Ca}^{2+}$ -акумуляуючих систем секреторних клітин у підтриманні  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу та їх взаємодії між собою є необхідним для розуміння механізмів регуляції слиновиділення. Проте, незважаючи на очевидну фізіологічну роль такої взаємодії, відомості про механізми її реалізації в клітинах слинних залоз є нечисленними.

*Ізолювання ацинарних клітин підщелепної слинної залози.* Дослідження особливостей  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу проводили на ізолюваних ацинарних клітинах підщелепної слинної залози самців щурів лінії Wistar віком 1,5–2 місяці. Клітини ізолювали з тканини залози після її ферментативної обробки у базовому зовнішньоклітинному розчині, який містив колагеназу (тип I, 320 mU/mg) [26]. Базовий зовнішньоклітинний розчин містив (у ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 4,7,  $\text{CaCl}_2$  – 1,3,  $\text{MgCl}_2$  – 1,0, гідроксиетилпіперазин-N-2-етансульфонова кислота (HEPES) – 10, глюкоза – 10, pH=7,4.

*Одержання фракції везикул мембран секреторних клітин підщелепної слинної залози щурів.* Для дослідження активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз ПМ та ЕПР в умовах протоколу ізолювані ацинарні клітини інкубували у кальційвмісному зовнішньоклітинному розчині протягом 15 хв, після чого отримували мікросомальну фракцію мембран ПМ та ЕПР. Фракцію мембранних везикул ацинарних клітин підщелепної слинної залози одержували з використанням методу диференціального центрифугування [6]. Із використанням детергенту дигітоніну констатовано переважно inside-out (цитоплазматичною поверхнею назовні)-орієнтованість везикул в одержаній фракції [1].

*Визначення активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз.* Перед початком експерименту аліквоти мембранних везикул переносили у розчин, наблизений за складом до внутрішньоклітинного, який містив (у ммоль/л): NaCl – 50,0; KCl – 100,0; трис-Cl – 20,0 (pH=7,4, t=37°C);  $\text{MgCl}_2$  – 3,0;  $\text{CaCl}_2$  – 0,01. АТФ-гідролазну ферментативну реакцію ініціювали додаванням 3 ммоль/л АТФ. Проби інкубували протягом 1,5 хв при t=37°C, реакцію зупиняли 20% трихлороцтовою кислотою. Вміст пробірок відцентрифугували 10 хв при 1600 g. У супернатанті визначали вміст неорганічного фосфору ( $\text{P}_i$ ) [14] та білка [28].

Активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз розраховували як різницю між активністю АТФазних систем у  $\text{Ca}^{2+}$ -вмісному та безкальцієвому середовищах і виражали у мкмоль  $\text{P}_i$ , який утворювався під час АТФ-гідролазної реакції в перерахунку на 1 мг білка за 1 год. Для розділення сумарної  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазної активності на складові: тапсигаргін-нечутливу  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазу ПМ та тапсигаргін-чутливу  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазу ЕПР, використовували тапсигаргін у концентрації 1 мкмоль/л. При цьому враховували вміст ендogenous фосфору та  $\text{P}_i$ , вивільненого у ході неферментативного гідролізу АТФ [1; 2].

*Методика визначення концентрації цитоплазматичного  $\text{Ca}^{2+}$ .* Для вимірювання [ $\text{Ca}^{2+}$ ] в цитоплазмі ацинарних клітин підщелепної слинної залози щурів використовували мембранопроникну форму високоафінного  $\text{Ca}^{2+}$ -зонда фура-2/АМ [11]. Для завантаження  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого зонда в ацинарні клітини суспензію ацинусів поміщали в базовий розчин, який містив мембранопроникну форму барвника в концентрації 5 мкмоль/л за наявності детергенту плюронік F-127 (0,02%). Для розрахунку [ $\text{Ca}^{2+}$ ]<sub>i</sub> нами використано формулу Грінкевича та співавторів [22].

*Методика реєстрації концентрації іонізованого  $\text{Ca}^{2+}$  у внутрішньоклітинних депо  $\text{Ca}^{2+}$ .* Для моніторингу концентрації катіонів  $\text{Ca}^{2+}$ , депонованого в ЕПР та МХ, ацинарні клітини завантажували мембранопроникною формою  $\text{Ca}^{2+}$ -барвника маг-фура-2/АМ у концентрації 5 мкмоль/л. Інкубування проводили протягом 45–60 хв при 37°C за наявності детергенту плюронік F-127 (0,02%). Такі умови зафарбовування забезпечують

компаратменталізацію барвників у внутрішньоклітинних органелах [37]. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних визначали коефіцієнт Стьюдента, а вірогідними вважали зміни при показнику достовірності  $P < 0,01$ .

Раніше нами показано [5], що за умов одночасної активації холіно- та пуринергічної сигнальних систем відбувається поява  $[Ca^{2+}]_i$ -транз'єнтів, амплітуда і тривалість яких була достовірно більшою, порівняно з такими за умов окремої активації відповідних рецепторів. На основі власних результатів [1, 3] та даних літератури [15, 38] ми припустили, що за таких умов ймовірно виражено зростає вклад МХ у регуляцію просторово-часових параметрів агоніст-індукованих  $[Ca^{2+}]_i$ -транз'єнтів. Зокрема, іншими авторами було показано, що за умов стимуляції декількох рецепторних систем ПМ спостерігається зростання амплітуди  $[Ca^{2+}]_{MX}$ -транз'єнтів і активація інтрамітохондріального транспорту  $Ca^{2+}$  з подальшим його вивільненням у ділянках, віддалених від локалізації депокерованих каналів (SOCC) [15, 16, 29]. Припускається, що таке зростання  $Ca^{2+}$ -буферної ємності МХ за умов потужної стимуляції клітин є єдиним механізмом, який забезпечує ефективне перезавантаження  $Ca^{2+}$  ЕПР, попереджає  $Ca^{2+}$  перенавантаження клітин і завдяки цьому дає змогу підтримувати довготривалі функціональні відповіді [15, 25]. Враховуючи це, ми провели вимірювання сумарного вмісту  $Ca^{2+}$  в ацинарних клітинах підщелепної залози за умов пригнічення  $Ca^{2+}$ -акумлюючої функції МХ з використанням карбонільціанід м-хлорфенілгідрозом (СССР, 10 мкмоль/л) – протонифор, який порушує потенціал внутрішньої мембран МХ та приводить до інгібування роботи  $Ca^{2+}$ -уніпортера, а також менадіону (10 мкмоль/л), який роз'єднує дихальний ланцюг у цитохромоксидазній ланці, також припиняючи вхід  $Ca^{2+}$  у МХ.

Нами виявлено, що менадіон та СССР викликають зменшення сумарного вмісту  $Ca^{2+}$  у ацинарних клітинах на  $33 \pm 6\%$  та  $35 \pm 5\%$  ( $n=8$ ,  $P < 0,01$ ), відповідно, порівняно з контролем (рис. 1).

Одночасне аплікування СССР та менадіону до ацинарних клітин викликало зменшення вмісту сумарного  $Ca^{2+}$  в середньому на  $31 \pm 7\%$  ( $n=6$ ,  $P < 0,01$ , рис. 1) порівняно з контролем, тобто зміни сумарного вмісту  $Ca^{2+}$  були подібними до отриманих при окремому застосуванні кожної зі сполук. Таким чином, одержані дані свідчать про те, що за умов блокування  $Ca^{2+}$ -уніпортера МХ відбувається зменшення клітинного вмісту  $Ca^{2+}$ . Слід зауважити, що існують

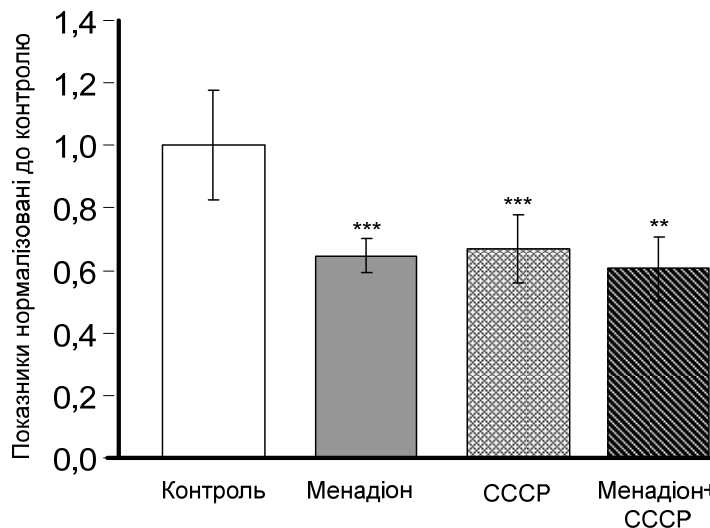


Рис. 1. Зміни сумарного вмісту  $Ca^{2+}$  в ацинарних клітинах підщелепної слинної залози за умов інкубування у зовнішньоклітинному кальційвмісному розчині з менадіоном (10 мкмоль/л), СССР (10 мкмоль/л) та з їх сумішшю.

свідчення неселективності дії СССР [31], який може спричиняти роз'єднання протонних градієнтів та зменшення концентрації АТФ у цитоплазмі, що може відобразитися на роботі  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз. Проте Ландолфі та співавтори [27] показали, що СССР-індуковане підвищення  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  обумовлене блокуванням  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера МХ, а не пригніченням роботи  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз. Щоб перевірити можливі побічні ефекти СССР, ми використали суміш ротенону й олівоміцину. Це запобігає активації реверсивного режиму роботи АТФ-синтази, що могло би призвести до зменшення клітинних запасів АТФ, а концентрація АТФ підтримується за рахунок гліколізу [27, 31]. Нами показано, що ефект від застосування суміші ротенон + олігоміцин достовірно не відрізнявся від ефекту тільки СССР. Таким чином, виявлені нами ефекти відображають роль МХ у регуляції активації SOCC і не відображають зменшення клітинних запасів АТФ. Отже, ми припускаємо, що виявлене нами зменшення сумарного вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  може бути зумовлене пригніченням за даних умов функціонування SOCC ПМ та/або процесів підтримання  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу в ЕПР [26, 38]. Такий пригнічуючий ефект був показаний раніше і для інших типів незбудливих клітин [32, 34]. Ми довели наявність такого пригнічуючого ефекту шляхом прямої реєстрації депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  у клітини (рис. 2). Для цього в умовах протоколу проведено попереднє інкубування ацинарних клітин підщелепної слинної залози у безкальцієвому розчині з АХ з метою спустошити депо  $\text{Ca}^{2+}$ .

Активацію депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  ініціювали додаванням до зовнішньоклітинного розчину 2 ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ . Як видно з рис. 2, за умов активації депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  на фоні СССР відбувається зменшення амплітуди та початкової швидкості

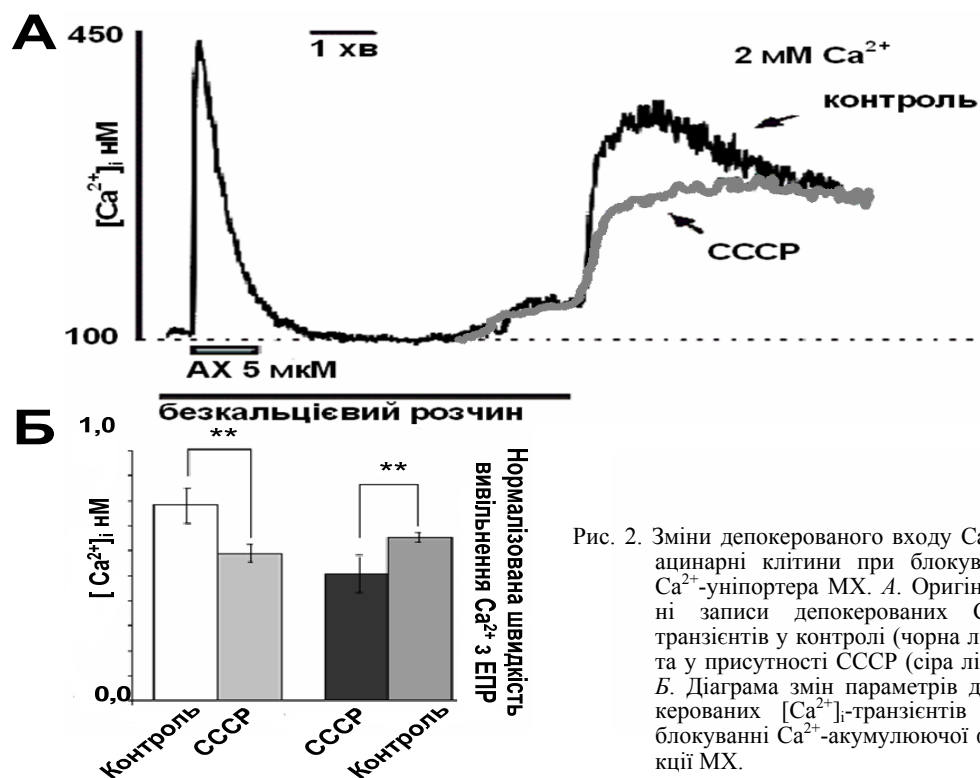


Рис. 2. Зміни депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  в ацинарні клітини при блокуванні  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера МХ. А. Оригінальні записи депокерованих  $\text{Ca}^{2+}$ -транзентів у контролі (чорна лінія) та у присутності СССР (сіра лінія). Б. Діаграма змін параметрів депокерованих  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -транзентів при блокуванні  $\text{Ca}^{2+}$ -акумулюючої функції МХ.

депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  у клітини на  $25\pm 3\%$  та  $21\pm 2\%$  ( $n=8$ ,  $P<0,01$ ), відповідно, порівняно з контролем. Слід зазначити, що виявлені зміни узгоджуються з даними інших авторів [19, 26], проте є менш вираженими, ніж ефекти, виявлені на інших типах незбудливих клітин [20]. Ми вважаємо, що таке зменшення амплітуди SOC-входу  $\text{Ca}^{2+}$ , ймовірно, зумовлене зменшенням кількості відкритих каналів ПМ за рахунок їхньої швидкої  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної інактивації. Така інактивація каналів входу при блокуванні захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  МХ можлива за рахунок колокалізації МХ та ПМ у досліджуваних клітинах [25]. Крім того, наявність швидкої та повільної компонент  $\text{Ca}^{2+}$ -індукованої інактивації каналів депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  була показана шляхом прямої реєстрації  $I_{\text{CRAC}}$  у лімфоцитах та доведено здатність МХ запобігати розвитку цього процесу [32]. З іншого боку, одержані дані свідчать також і про сповільнення процесу депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$ , що може бути зумовлене не лише зменшенням кількості відкритих SOCC, але і порушенням роботи інших  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортних систем клітин, зокрема  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази.

Для перевірки нашого припущення про зміни  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу в ЕПР за умов порушення акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  МХ інкубували ацинарні клітини у безкальцієвому зовнішньоклітинному розчині, тобто за умов неможливості депокерованого надходження  $\text{Ca}^{2+}$  у клітини. Нами показано, що за таких умов СССР та менадіон, як і в попередній серії експериментів, викликали зменшення сумарного вмісту  $\text{Ca}^{2+}$ , проте такі зміни були більш вираженими. Зокрема, СССР та менадіон призводили до зменшення сумарного вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  на  $57\pm 4\%$  ( $n=5$ ,  $P<0,01$ ) та  $60\pm 6\%$  ( $n=7$ ,  $P<0,001$ ) відповідно (рис. 3). Одночасне додавання СССР та менадіону до середовища інкубування клітин викликало зменшення вмісту сумарного  $\text{Ca}^{2+}$  на  $50\pm 5\%$  ( $n=5$ ,  $P<0,01$ , рис. 3) порівняно з контролем. Одночасне додавання СССР та менадіону до середовища інкубування клітин викликало зменшення вмісту сумарного  $\text{Ca}^{2+}$  на  $50\pm 5\%$  ( $n=5$ ,  $P<0,01$ , рис. 3) порівняно з контролем. Оскільки ефект блокування захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  МХ за неможливості перенаповнення депо ЕПР був значно більше вираженим, то, ймовірно, МХ не лише визначають параметри депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  через ПМ, але і впливають на  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаз в ЕПР. Виходячи з цього, ймовірною мішенню регуляторного впливу МХ можуть бути  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази. Нами показано, що за умов дії СССР активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ достовірно зменшується на  $44\pm 7\%$ , а активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР зростає на  $167\pm 7\%$  ( $n=6$ ,  $P<0,01$ , рис. 4). Слід також зазначити, що роз'єднування дихального ланцюга у цитохромоксидазній ланці МХ менадіоном ( $10 \text{ мкмоль/л}$ ) призводило до

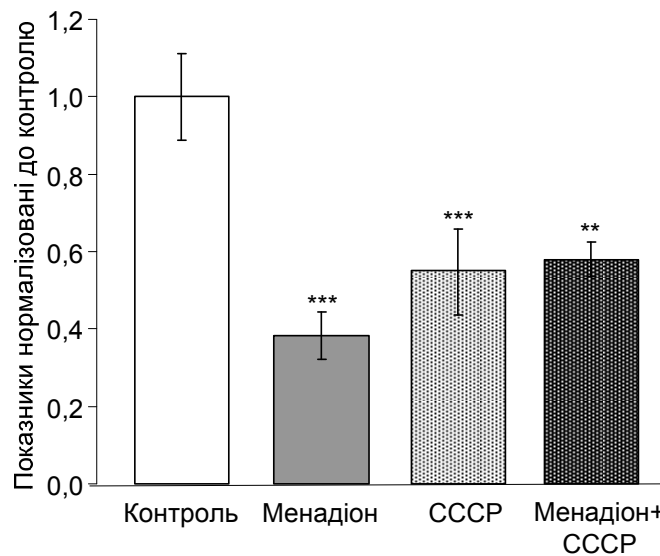


Рис. 3. Зміни сумарного вмісту кальцію в ацинарних клітинах підщелепної слинної залози під впливом менадіону ( $10 \text{ мкмоль/л}$ ), СССР ( $10 \text{ мкмоль/л}$ ) та їх сумішню за умов безкальцієвого зовнішньоклітинного розчину.

зниження активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз ПМ та ЕПР в середньому на  $80 \pm 2\%$  ( $n=6$ ,  $P<0,001$ ) та  $65 \pm 7\%$  ( $n=6$ ,  $P<0,01$ , рис. 4), відповідно. Одночасне аплікування СССР та менадіону до ацинарних клітин викликало пригнічення активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз удвічі (див. рис. 4). Однак слід зауважити, що ефект менадіону слід пов'язувати перш за все зі здатністю менадіону посилювати утворення активних форм кисню, які, найімовірніше, безпосередньо впливають на функціонування  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз [4, 33]. Загалом ми припускаємо, що пригнічення роботи  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ зумовлено локальним зниженням концентрації АТФ при блокуванні роботи  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера МХ [9, 15], проте зростання активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР зумовлене колокалізацією цих систем і формуванням мікродоменів високої концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  між ділянками вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із МХ та захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  у ЕПР. Наявність такої колокалізації було виявлено раніше і показало [25], що відстань між мембраною МХ та ЕПР є достатньою для формування мікродоменів високої концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  [25], що дає змогу  $\text{Ca}^{2+}$  локально (без надходження у цитоплазму) транспортуватись у ЕПР, як це було показано і для інших типів клітин [35]. Зокрема, ми припускаємо, що  $\text{Ca}^{2+}$ , який посилено вивільняється із МХ, перерозподіляється до ЕПР і активує близько розташовану  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазу ЕПР.

Це припущення було нами прямо підтверджено шляхом реєстрації концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в ЕПР з використанням низькоафінного барвника маг-фура 2/АМ, у присутності та відсутності СССР. Зокрема, нами показано, що при активації депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  у присутності СССР відбувалося зростання амплітуди та швидкості й перезаповнення  $\text{Ca}^{2+}$  ЕПР на  $40 \pm 2\%$  та  $47 \pm 6\%$  ( $n=6$ ,  $P<0,01$ , рис. 5), відповідно.

Враховуючи здатність МХ регулювати депокерований вхід, активований агоніст-індукованим спустошенням депо ЕПР, ми припустили можливу роль МХ у регуляції внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, які активуються при зв'язуванні агоністів з рецепторними системами ПМ. Відомо, що секреція рідкої слини опосередковується ак-

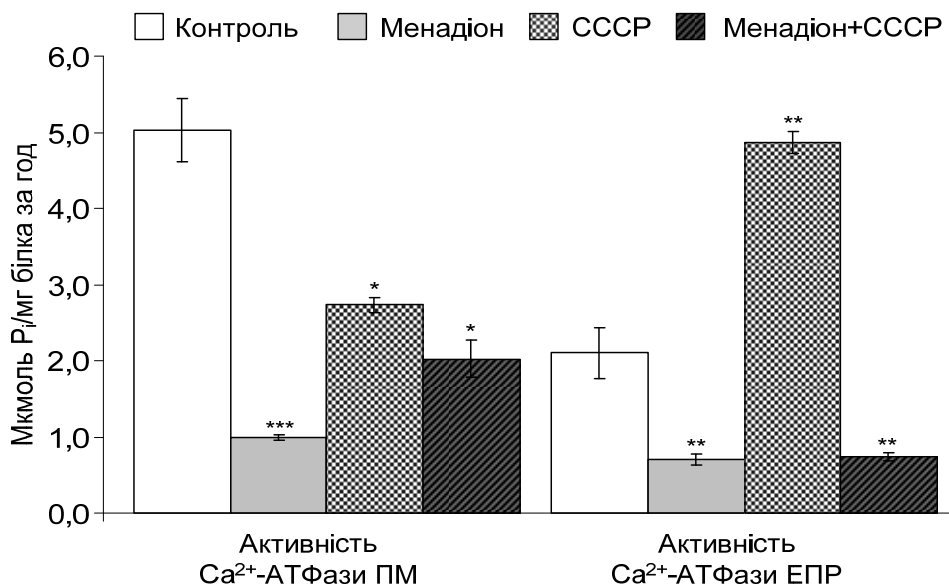


Рис. 4. Ефект блокування  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера МХ на активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ та мембрани ЕПР за умов дії менадіону (10 мкмоль/л), СССР (10 мкмоль/л) та їх суміші.

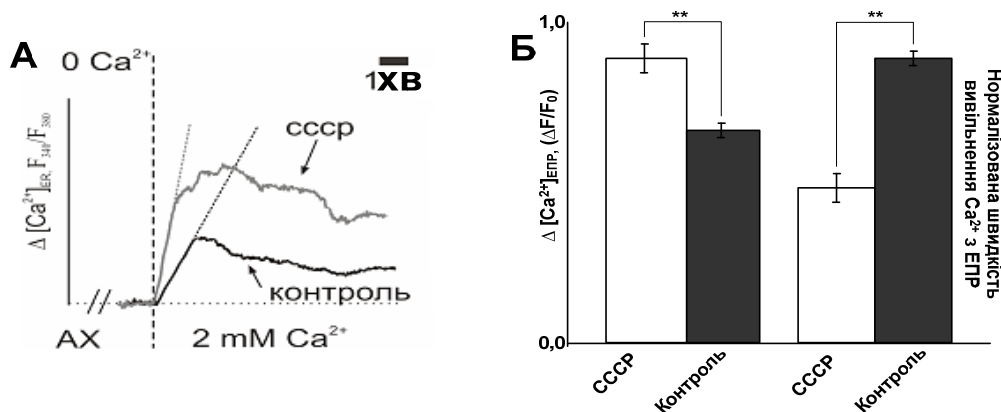


Рис. 5. Зміни перезаповнення ЕПР при блокуванні Ca<sup>2+</sup>-уніпортера МХ. А. Оригінальні записи змін [Ca<sup>2+</sup>] в ЕПР у контролі (чорна лінія) та у присутності СССР (сіра лінія). Б. Діаграма змін параметрів перезаповнення ЕПР при блокуванні Ca<sup>2+</sup>-акумуляуючої функції МХ.

тивацією М1 та М3-холінорецепторів та Р2Х-пуринорецепторів [7, 30]. Стимуляція ж секреції муцинів відбувається при дії секретогогів b-адренергічної природи та Р1-пуринорецепторів [12]. Незважаючи на велику кількість даних літератури на цю тематику, дослідження взаємозв'язку між рецепторними системами ПМ та Ca<sup>2+</sup>-транспортними системами є нечисленними. Враховуючи це та результати попередніх наших досліджень [3, 4], ми припустили, що у захопленні Ca<sup>2+</sup>, який вивільняється з ЕПР при активації рецепторів ПМ, визначальну роль однаковою мірою відіграють як Ca<sup>2+</sup>-АТФази, так і Ca<sup>2+</sup>-транспортні системи МХ, однак механізм і почерговість залучення цих Ca<sup>2+</sup>-транспортних одиниць залишаються незрозумілими.

Для дослідження цього ми провели інкубування ацинарних клітин у зовнішньоклітинному розчині в присутності агоністів  $\alpha$ - та  $\beta$ -адренорецепторів у контролі та за наявності у середовищі СССР. Одержані нами результати показали, що інкубування ацинарних клітин з агоністом  $\beta$ -адренорецепторів ізопротеренолом (5 мкмоль/л) викликає зростання активності Ca<sup>2+</sup>-АТФази ПМ на 12±5% (n=6, P<0,01, рис. 6), а активність Ca<sup>2+</sup>-АТФази ЕПР достовірно не відрізняється від такої у контролі.

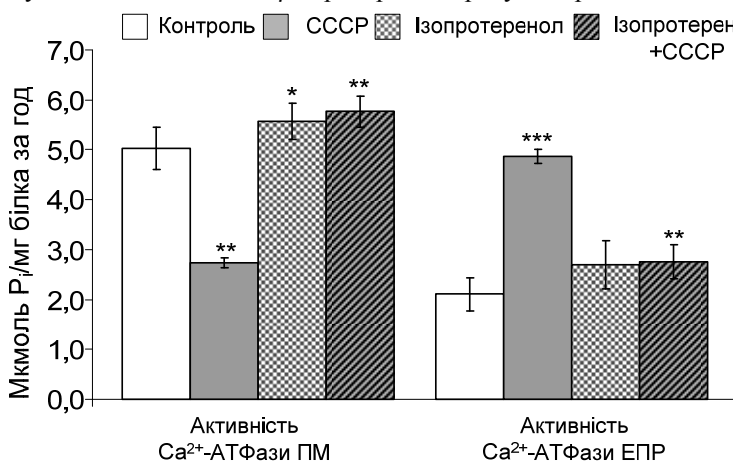


Рис.6. Зміни активності Ca<sup>2+</sup>-АТФази ПМ та мембран ЕПР у ацинарних клітинах підщелепної слинної залози за умов активації  $\beta$ -адренорецепторів ізопротеренолом (5 мкмоль/л), блокування Ca<sup>2+</sup>-уніпортера МХ за допомогою СССР (10 мкмоль/л) та при дії суміші цих речовин.

Крім того, за умов інгібування  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера МХ за допомогою СССР та одночасної активації  $\beta$ -адренорецепторів відбувалося зростання активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ на  $16 \pm 4\%$  й активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР на  $37 \pm 8\%$  ( $n=6$ ,  $P<0,01$ , рис. 6) порівняно з контролем. Подібного характеру зміни ми отримали за умов аплікації до ацинарних клітин норадреналіну ( $10$  мкмоль/л). Так, норадреналін викликав зростання активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ та ЕПР на  $12 \pm 5\%$  та  $48 \pm 14\%$  ( $n=6$ ,  $P<0,01$ , рис. 7), відповідно. Інкубування ацинарних клітин зі сумішшю СССР та норадреналіну викликало зростання активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ та ЕПР на  $21 \pm 4\%$  та  $54 \pm 9\%$  ( $n=6$ ,  $P<0,001$ , рис. 7), відповідно.

Нами показано, що інкубування ацинарних клітин з агоністом  $\text{P2X}$ -пуринорецепторів АТФ ( $100$  мкмоль/л) супроводжувалося зростанням активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ на  $18 \pm 6\%$  ( $n=6$ ,  $P<0,01$ , рис. 8), а активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР не зазнала достовірних змін.

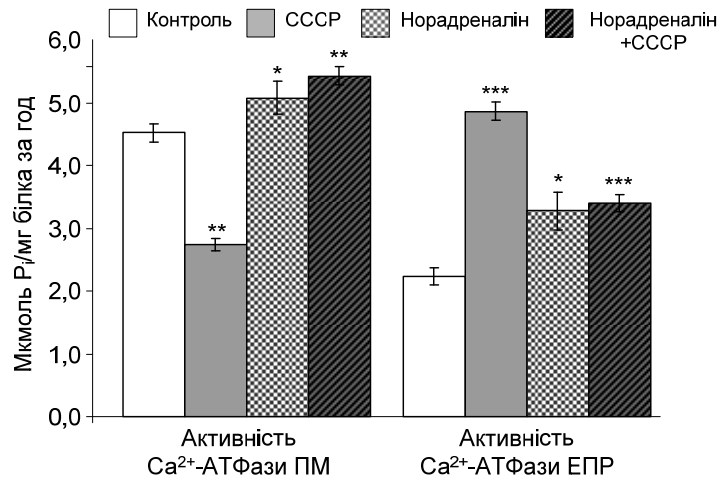


Рис. 7. Зміни активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ та мембран ЕПР у ацинарних клітинах підщелепної слинної залози за умов активації  $\alpha$ - та  $\beta$ -адренорецепторів норадреналіном ( $10$  мкмоль/л), блокування  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера МХ за допомогою СССР ( $10$  мкмоль/л) та при дії суміші цих речовин.

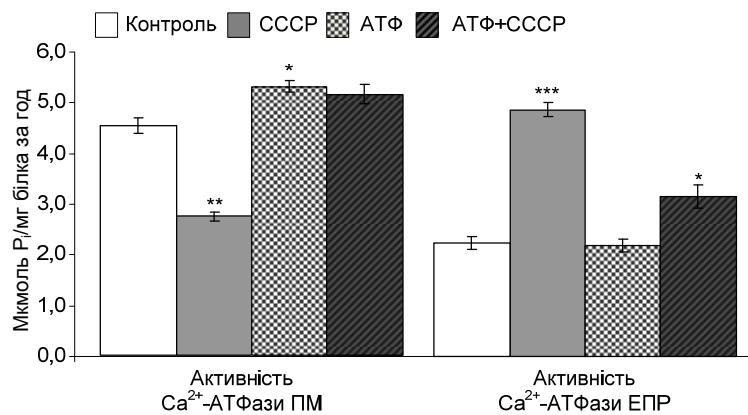


Рис. 8. Зміни активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ та мембран ЕПР у ацинарних клітинах підщелепної слинної залози за умов активації  $\text{P2X}$  пуринорецепторів АТФ ( $100$  мкмоль/л), блокування  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера МХ за допомогою СССР ( $10$  мкмоль/л) та при дії суміші цих речовин.



Пригнічення  $\text{Ca}^{2+}$ -акумуляуючої функції МХ за допомогою СССР у присутності АТФ призводило до підсилення роботи  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР на  $42 \pm 9\%$  ( $n=6$ ,  $P < 0,05$ , рис. 8) порівняно з контролем, зміни активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ не досягали першого рівня достовірності. Подібного характеру зміни функціонування  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз ПМ та мембран ЕПР ми показали і у випадку інкубування ацинарних клітин з агоністом Р1-пуринорецепторів аденозином та сумішшю аденозину з СССР. Зокрема, реєстрація активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз обох мембранних фракцій показала, що аденозин викликає незначне, проте достовірне зростання активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ на  $20 \pm 3\%$  ( $n=6$ ,  $P < 0,01$ ), а активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР достовірно не змінювалась. Однак одночасне застосування СССР і аденозину спричинило зростання активності тільки  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР ( $29 \pm 6\%$ ,  $n=6$ ,  $P < 0,01$ , рис. 9).

Таким чином, нами показано, що за умов активації рецепторних систем ПМ та блокуванні  $\text{Ca}^{2+}$ -акумуляуючої функції МХ відбувається зростання активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ і пригнічення активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази мембран ЕПР. Останнє свідчить про те, що виявлені ефекти не залежать від типу рецепторної системи, яка активується. Подібні результати були одержані Цангом і співавторами [41], які показали, що за умов активації мускаринових рецепторів карбахолом спостерігається зростання активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ, причому активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ додатково зростала за умов блокування  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР. На нашу думку, явища, одержані нами при пригніченні захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  МХ при дії агоністів, свідчать про важливу роль МХ у забезпеченні перерозподілу  $\text{Ca}^{2+}$ , який потрапляє у цитоплазму при активації рецепторних систем клітини. Причому вклад МХ не залежить від типу рецепторної системи. На основі одержаних результатів ми припускаємо, що незалежно від того, який механізм підвищення  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  активується першопочатково (іонотропний чи метаботропний),

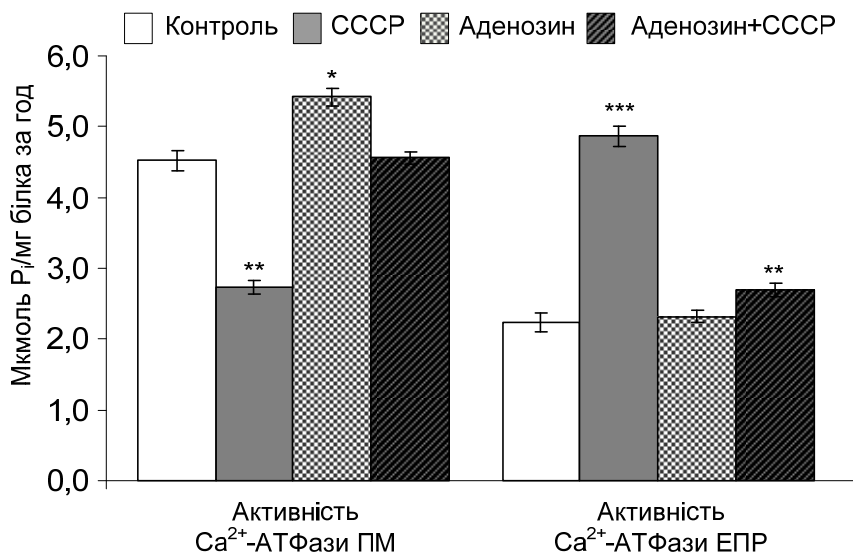


Рис. 9. Діаграма змін активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ та ЕПР у ацинарних клітинах підщелепної слинної залози за умов активації Р1 пуринорецепторів аденозином (100 мкмоль/л), блокування  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера МХ за допомогою СССР (10 мкмоль/л) та при дії суміші цих речовин.

МХ здійснюють активне захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  із ділянок їх колокалізації із ПМ та ЕПР. Наявність таких ділянок близького контакту показано іншими авторами для ацинарних клітин підщелепної [25] та підшлункової [35] залоз. Крім того, нами та іншими авторами [25] показана здатність МХ не лише регулювати кількість відкритих каналів депокерованого входу, але і здійснювати контроль над ефективністю процесу вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з ЕПР [11, 16, 17]. Цікавим є той факт, що ефект блокування  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера на процес  $\text{I}\Phi_3$ -залежного вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  є протилежним у клітинах різних типів. Так, у ацинарних секреторних клітинах блокування  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера призводить до пригнічення  $\text{I}\Phi_3$ -залежного вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ , а у лімфоцитах – навпаки, до його потенціації [23]. Захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  призводить до активації внутрішньомітохондріального метаболізму та посилення синтезу АТФ, яка, у свою чергу, слугує для посилення роботи  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз та інших АТФ-чутливих внутрішньоклітинних сигнальних молекул [22]. Крім того, після активації депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$  і акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  у МХ відбувається внутрішньомітохондріальний тунелінг  $\text{Ca}^{2+}$  від центрів його захоплення у більш віддалені від цитоплазми частини МХ, де транспортований  $\text{Ca}^{2+}$  вивільняється  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінником МХ і слугує для перезаповнення ЕПР через мікродомени високої концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  між молекулами обмінника та  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазами [24]. За умов потужної стимуляції клітин, що спостерігається при споживанні їжі [9, 39], відбувається накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  в МХ, що супроводжується (згідно з даними інших авторів) пригніченням процесу захоплення  $\text{Ca}^{2+}$ , і відбувається швидко пряме (не опосередковане МХ) перенаповнення ЕПР за рахунок початкового зростання активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР [21], а  $\text{Ca}^{2+}$ , який надходить у клітини за депокерованим механізмом, виводиться у зовнішньоклітинне середовище виключно завдяки функціонуванню  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ, про що свідчить зростання її активності. На нашу думку, описані явища є необхідним фізіологічним пристосувальним механізмом, у якому МХ служать як внутрішньоклітинний сенсор, котрий координує роботи  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортних систем різних субклітинних структур і запобігає цитотоксичному ефекту перевантаження клітин  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Ca}^{2+}$  спустошення депо ЕПР.

Таким чином, нормальне функціонування ацинарних клітин слинних залоз визначається взаємоузгодженою роботою  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортних систем ПМ і внутрішньоклітинних депо  $\text{Ca}^{2+}$  за механізмом: агоніст  $\rightarrow$  рецептор  $\rightarrow$  вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з депо  $\rightarrow$  активація  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР та ПМ і акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  у МХ  $\rightarrow$  активація депокерованого входу  $\text{Ca}^{2+}$   $\rightarrow$  насичення активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР та  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ  $\rightarrow$  продовження акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  у МХ  $\rightarrow$  трансмітохондріальний транспорт  $\rightarrow$  перенаповнення ЕПР  $\text{Ca}^{2+}$   $\rightarrow$  зниження активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ЕПР  $\rightarrow$  функціонування  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ  $\rightarrow$  зниження активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази ПМ = зниження концентрації цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  до вихідного рівня.

1. Вац Ю., Гричан Н., Федірко Н. Функціональні властивості іоногенних груп у складі молекул  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз ацинарних клітин підщелепної слинної залози щурів // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. 2006. № 1. С. 31–40.
2. Вац Ю. О., Клевець М. Ю., Федірко Н. В. Кінетичні характеристики  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -АТФаз клітин підщелепної слинної залози щурів // Укр. біохім. журн. 2004. Т. 76. № 6. С. 44–54.
3. Гричан Н. Я., Котлярова А. Б., Копач О. В., Федірко Н. В. Взаємодія між кальцієвим уніпортером мітохондрій та  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазами плазматичної мембрани та ендо-

- плазматичного ретикулуму у клітинах підщелепної слинної залози // Біофізичні механізми функціонування живих систем: Матеріали міжнар. наук. конф. м. Львів, 16–18 жовтня 2008 р. Львів, 2008, С. 39.
4. *Гричан Н., Копач О., Федірко Н.* Ca<sup>2+</sup>-залежний механізм порушення функціонування підщелепної слинної залози за умов менадіон-індукованого апоптозу // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 47. С. 130–145.
  5. *Гричан Н. Я., Федірко Н. В.* Роль пуринорецепторів у регуляції слиновиділення підщелепною слинною залозою щурів // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. 2008. № 1. С. 11–21.
  6. *Гричан Н., Нецик О., Копач О.* та ін. Кальційзалежний механізм розвитку радіаційної ксеростомії // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 48. С. 162–173.
  7. *Ambudkar I. S.* TRPC1: a core component of store-operated calcium channels // Biochemical Society Transactions. 2007. Vol. 35. N 1. P. 96–100.
  8. *Armstrong C. F.* ER-Mitochondria Communication. How Privileged? // *Physiol.* 2007. N 22. P. 261–268.
  9. *Ashby M. C., Craske M., Park M. K.* et al. Localized Ca<sup>2+</sup> uncaging reveals polarized distribution of Ca<sup>2+</sup>-sensitive Ca<sup>2+</sup> release sites: mechanism of unidirectional Ca<sup>2+</sup> waves // *J. Cell Biol.* 2002. N 158. P. 283–292.
  10. *Atkinson J. C., Fox P. C.* Salivary gland dysfunction // *Clin. Geriatr. Med.* 1992. N 8. P. 499–511.
  11. *Berridge M. J.* Calcium signal transduction and cellular control mechanisms // *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. N 1742. P. 3–7.
  12. *Belan P., Gardner J., Gerasimenko O.* et al. Isoproterenol evokes extracellular Ca<sup>2+</sup> spikes due to secretory events in salivary gland cells // *J. Biol. Chem.* 1998. N 273. P. 4106–4111.
  - 12a. *Berridge M. J.* Calcium signal transduction and cellular control mechanisms // *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. N 1742. P. 3–7.
  13. *Brough D., Schell M. J., Irvine R. F.* Agonist-induced regulation of mitochondrial and endoplasmic reticulum motility // *Biochem. J.* 2005. N 392. P. 291–297.
  14. *Fiske C. H., SubbaRow Y.* The colorimetric determination of phosphorus // *J. Biol. Chem.* 1925. N 66. P. 375–400.
  15. *Frieden M., Arnaudeau S., Castelbou C., Demaurex N.* Subplasmalemmal mitochondria modulate the activity of plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPases // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. N 52. P. 43198–43208.
  16. *Ganitkevich V. Y.* The role of mitochondria in cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> cycling // *Exp. Physiol.* 2003. N 88. P. 91–97.
  17. *Gilibert J. A., Bakowski D., Parekh A. B.* Energized mitochondria increase the dynamic range over which inositol 1,4,5-trisphosphate activates store-operated calcium influx // *EMBO J.* 2001. Vol. 20. N 11. P. 2672–2679.
  18. *Gilibert J. A., Parekh A. B.* Respiring mitochondria determine the pattern of activation and inactivation of the store-operated Ca(2+) current I(CRAC) // *EMBO J.* 2001. Vol. 19. N 23. P. 6401–6407.
  19. *Glicsh M. D., Bakovski D., Parekh A. B.* Store-operated Ca<sup>2+</sup> entry depends on mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake // *EMBO J.* 2002. N 21. P. 6744–6754.
  20. *Gonza A., Schulz I., Schmi A.* Agonist-evoked Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> Signals in Mouse Pancreatic Acinar Cell // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. N 49. P. 38680–38686.

21. *Graier W. F., Paltauf-Doburzynska J., Hill B. J.* et al. Submaximal stimulation of porcine endothelial cells causes focal Ca<sup>2+</sup> elevation beneath the cell membrane // *J. Physiol.* 1998. Vol. 506. N 1. P. 109–125.
22. *Grynkiewicz G., Poenie M., Tsien R.* A New Generation of Ca<sup>2+</sup> Indicators with Greatly Improved Fluorescence Properties // *J. Biol. Chem.* 1985. N 260. P. 3440–3450.
23. *Gunter T. E., Yule D. I., Gunter K. K.* et al. Calcium and mitochondria // *FEBS Lett.* 2004. N 567. P. 96–102.
24. *Hoth M., Fanger C. M., Lewis R. S.* Mitochondrial regulation of store-operated calcium signaling in T Lymphocytes // *J. Cell Biol.* 1997. Vol. 137. N 3. P. 633–648.
25. *Kopach O., Kruglikov I., Pivneva T.* et al. Functional coupling between ryanodine receptors, mitochondria and Ca<sup>2+</sup>-ATPases in rat submandibular acinar cells // *Cell Calcium.* 2008. N 43. P. 469–481.
26. *Kopach O. V., Kruhlykov I. A., Voitenko N. V.* et al. Permeabilized salivary gland cells as a model to study Ca<sup>2+</sup>-transporting systems of endoplasmic reticulum membrane // *Fiziol. Zh.* 2003. N 49. P. 31–42.
27. *Landolfi B., Curci S., Debellis L.* et al. Ca<sup>2+</sup> Homeostasis in the Agonist-sensitive Internal Store: Functional Interactions Between Mitochondria and the ER Measured In Situ in Intact Cells // *J. Cell Biol.* 1998. Vol. 142. N 5. P. 1225–1243.
28. *Lowry J. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randal R. J.* Protein measurements with the folic phenol reagent // *J. Biol. Chem.* 1951. N 193. P. C265–C275.
29. *Malli R., Frieden M., Osibow K.* et al. Sustained Ca<sup>2+</sup> transfer across mitochondria is Essential for mitochondrial Ca<sup>2+</sup> buffering, store-operated Ca<sup>2+</sup> entry, and Ca<sup>2+</sup> store refilling // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. N 45. P. 44769–44779.
30. *Melvin J., Yule D., Shuttleworth T., Begenisich T.* Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells // *Annu. Rev. Physiol.* 2005. N 67. P. 445–469.
31. *Nicholls D. G., Budd S. L.* Mitochondria and neuronal survival // *Physiol. Rev.* 2000. Vol. 80. N 1. P. 315–360.
32. *Parekh A. B.* Mitochondrial regulation of store-operated CRAC channels // *Cell Calcium.* 2008. Vol. 44. N 1. P. 6–13.
33. *Petersen O.* Menadione-induced Reactive Oxygen Species Generation via Redox Cycling Promotes Apoptosis of Murine Pancreatic Acinar Cells // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. N 52. P. 40485–40492.
34. *Petersen O.* Stimulus-secretion coupling: cytoplasmic calcium signals and the control of ion channels in exocrine acinar cells // *J. Physiol.* 1992. N 448. P. 1–51.
35. *Rizzuto R., Pozzan T.* Microdomains of intracellular Ca<sup>2+</sup>: molecular determinants and functional consequences // *J. Physiol. Rev.* 2006. N 86. P. 369–408.
36. *Salathe M., Ivonnet P. I., Lieb T., Bookman R. J.* Agonist-stimulated calcium decreases in ovine ciliated airway epithelial cells: role of mitochondria // *J. Physiol. Pharmacol.* 2001. N 531. P. 13–26.
37. *Tsien R. Y.* Intracellular Measurements of Ion Activities // *Annu. Rev. Biophys. Bioen.* 1983. N 12. P. 91–116.
38. *Verkhratsky A.* Endoplasmic reticulum calcium signaling in nerve cells // *Biol. Res.* 2004. Vol. 37. N 4. P. 693–699.
39. *Walsh C., Barrow S., Voronina S.* et al. Modulation of calcium signalling by mitochondria // *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. Vol. 1790. N 6. P. 404–408.

40. Zachariassen R. Oral components of Sjogren's syndrome // J. Gt. Houst. Dent. Soc. 1996. N 68. P. 19–21.
41. Zhang B. X., Zhao H., Loessberg P., Muallem S. Activation of the Plasma Membrane  $\text{Ca}^{2+}$  Pump during Agonist Stimulation of Pancreatic Acini // J. Biol. Chem. 1992. Vol. 267. N 22. P. 15419–15425.

**INTERPLAY BETWEEN THE  $\text{Ca}^{2+}$ -TRANSPORTING SYSTEMS OF PLASMA  
MEMBRANE AND INTRACELLULAR  $\text{Ca}^{2+}$  STORES IN THE ACINAR CELLS OF  
SUBMANDIBULAR SALIVARY GLANDS**

**N. Grychan\*, O. Kopach\*\*, R. Makarowska\*\*\*, N. Voitenko\*\*, N. Fedirko\***

*\*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: grychannatali@gmail.com*

*\*\*Bogomoletz Institute of Physiology, NASU  
4, Bogomoletz St., Kyiv 25001, Ukraine*

*\*\*\*Lviv Regional Endocrinologic Dispensary  
1, Ostrozky St., Lviv 79005, Ukraine*

Regulation of salivation is mediated by the increase of  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in the acinar cells and is regulated by control over spatio-temporal characteristics of  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -signalling. The latter is mediated by coordinated functioning of  $\text{Ca}^{2+}$ -transporting systems of plasma membrane (PM) and  $\text{Ca}^{2+}$  stores (endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria (Mit)) however the mechanisms of this process remain unclear. We showed that activation of the receptor systems in the acinar cells leads to the redistribution of the impact of  $\text{Ca}^{2+}$ -sensitive systems in  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -signalling (changes in the activity of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase PM and ER as well as store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry). Moreover, the mitochondria play a key role in the interplay between the multiple cellular  $\text{Ca}^{2+}$  flows. Thus, described changes represent physiologically relevant adaptation mechanism in which the mitochondria are sensors that coordinate the functioning of  $\text{Ca}^{2+}$ -transporting systems in different subcellular organelles and prevent cytotoxic effect of  $\text{Ca}^{2+}$  overload and the ER depletion.

*Key words:* submandibular salivary gland, acinar cells,  $\text{Ca}^{2+}$ -homeostasis, plasma membrane, intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  store.

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ  $\text{Ca}^{2+}$ -ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ И МЕМБРАН ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ДЕПО  $\text{Ca}^{2+}$  В АЦИНАРНЫХ КЛЕТКАХ ПОДЧЕЛЮСТНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Н. Гричан<sup>\*</sup>, О. Копач<sup>\*\*</sup>, Р. Макаровская<sup>\*\*\*</sup>, Н. Войтенко<sup>\*\*</sup>, Н. Федирко<sup>\*</sup>**

*<sup>\*</sup>Львовський національний університет імені Івана Франко  
ул. Грушевського, 4, Львов 79005, Україна  
e-mail: grychannatali@gmail.com*

*<sup>\*\*</sup>Інститут фізіології імені А.Богомольця НАН України  
ул. Богомольця, 4, Київ 25001, Україна*

*<sup>\*\*\*</sup>Львівський обласний ендокринологічний диспансер  
ул. Острожського, 1, Львов 79005, Україна*

Регуляція слюноотделения осуществляется повышением  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в ацинарных клетках и регулируется посредством контроля над пространственно-временными характеристиками  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -сигнализации. Последнее обеспечивается согласованным функционированием  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортных систем плазматической мембраны (ПМ) и мембран депо  $\text{Ca}^{2+}$  (эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и митохондрий (МХ)), однако механизмы этого процесса не изучены. Нами установлено, что активация рецепторных систем ацинарных клеток приводит к перераспределению вклада  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительных систем в  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -сигнализацию (изменения активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз ПМ и ЭПР, а также депоуправляемого входа  $\text{Ca}^{2+}$ ). При этом ключевая роль в обеспечении взаимодействия между различными потоками  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке принадлежит митохондриям. Таким образом, описанные явления представляют собой физиологический адаптационный механизм, в котором МХ играют роль сенсора, координирующего работу  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортных систем разных субклеточных структур, а также предотвращающего цитотоксический эффект  $\text{Ca}^{2+}$  перегрузки и опустошения депо ЭПР.

*Ключевые слова:* подчелюстная слюнная железа, ацинарные клетки,  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостаз, плазматическая мембрана, внутриклеточные депо  $\text{Ca}^{2+}$ .

Стаття надійшла до редколегії 09.02.10  
Надійшла після доопрацювання 30.04.10  
Прийнята до друку 18.05.10