

Огляди

УДК 612.3:591.413.2

Ca²⁺-ТРАНСПОРТУВАЛЬНІ СИСТЕМИ СЕКРЕТОРНИХ КЛІТИН ЕКЗОКРИННИХ ЗАЛОЗ

Б. Манько, В. Манько

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: mankobo@gmail.com

В огляді розглянуто сучасні уявлення про функціонування Ca²⁺-транспортних систем секреторних клітин екзокринних залоз. Детально описано потенціалкервані, рецепторкервані і депокеровані Ca²⁺-канали плазматичної мембрани, ріанодинчутливі й інозитол-1,4,5-трифосфатчутливі Ca²⁺-канали ендоплазматичного ретикулуму, Ca²⁺-помпи плазматичної мембрани і ендоплазматичного ретикулуму та Na⁺-Ca²⁺-обмінник плазматичної мембрани. Особливу увагу приділено взаємодії Ca²⁺-транспортних систем, а також генерації і поширенню Ca²⁺-сигналів у секреторних клітинах.

Ключові слова: потенціалкервані Ca²⁺-канали, депокеровані Ca²⁺-канали, ріанодинчутливі Ca²⁺-канали, ІФ₃-чутливі Ca²⁺-канали, Ca²⁺-помпа, Na⁺-Ca²⁺-обмінник, секреторні клітини.

На сьогодні загальноновизнаним є те, що Ca²⁺ як вторинний посередник відіграє надзвичайно важливу роль у секреторному процесі екзокринних залоз [155], зокрема у запуску і регуляції екзоцитозу [49] та секреції електролітів [33, 171]. Ці процеси досить складні та різноманітні, проте їхній опис не є метою цього огляду. Натомість ми розглянемо передумови виникнення та особливості Ca²⁺-сигналів у секреторних клітинах.

Для забезпечення точної і надійної передачі інформації катіонами Ca²⁺ у секреторних клітинах наявний ряд мембранних систем транспортування Ca²⁺ (Ca²⁺-транспортних систем), що регулюють [Ca²⁺] у дискретних ділянках цитоплазми. Спочатку ми опишемо структурні, фармакологічні та функціональні властивості Ca²⁺-транспортних систем у секреторних клітинах. Пізніше перейдемо до опису механізмів генерації та поширення Ca²⁺-сигналів за участі Ca²⁺-транспортних систем. Детальніше зупинимося на нових, ще не до кінця досліджених, аспектах Ca²⁺-сигналізації секреторних клітин. Класичними об'єктами досліджень є ацинарні клітини підшлункової та слинних залоз ссавців, тому мова йтиме переважно про них.

Ca²⁺-транспортні системи плазматичної мембрани секреторних клітин. Плазматична мембрана містить кілька типів каналів, що забезпечують проникнення Ca²⁺ у клітину за градієнтом концентрації, та дві системи виведення Ca²⁺: Ca²⁺-помпу, що характеризується високою спорідненістю до Ca²⁺, але низькою ємністю, та Na⁺-Ca²⁺-обмінник із низькою спорідненістю та високою ємністю. До систем, що забезпечують обмежений вхід Ca²⁺, належать потенціалкервані канали (відкриваються при деполяризації), рецепторкервані канали (відкриваються у відповідь на дію специфічних лігандів) та депокеровані Ca²⁺-канали (активуються при вичерпанні внутрішньоклітинних депо Ca²⁺). Крім того, транспортування Ca²⁺ за участі плазматичної мембрани здійснюється також шляхом екзоцитозу. Відомо, що секреторні гранули містять Ca²⁺ у високій концентрації

(приблизно 10 ммоль/л) [77], тому при злитті їхніх мембран із плазмалею відбувається дифузія Ca²⁺ у позаклітинне середовище, де [Ca²⁺] становить приблизно 1 ммоль/л. Детальніше розглянемо функціонування систем транспортування Ca²⁺ плазмалеми.

Потенціалкервані Ca²⁺-канали (voltage-operated Ca²⁺ channel, Ca²⁺-VOC) забезпечують надходження у цитозоль позаклітинного Ca²⁺ у відповідь на деполяризацію плазматичної мембрани. Активація, тобто відкриття каналу, настає через кілька мілісекунд після деполяризації. Закриття каналу настає менш ніж за 1 мс після реполяризації мембрани [54]. Крім того, для цих каналів характерною є також інактивація – закривання внаслідок тривалої деполяризації (десятки мілісекунд – секунди).

Структурно потенціалкервані Ca²⁺-канали усіх типів складаються з 5 субодиниць (α_1 , α_2 , β , γ та δ), які формують великий мультимолекулярний комплекс і кодуються різними генами [54]. Найбільшою субодиницею є α_1 , яка включає іонну пору, сенсор потенціалу, ворітний апарат і сайти регуляції. Виділена зі серцевого м'язу і реконструйована у штучні двошарові мембрани α_1 -субодиниця виявила схожі властивості до Ca²⁺-каналу L-типу, тобто переносила катіони Ca²⁺ через мембрану. На відміну від α_1 -субодиниці кожна інша окремо виділена субодиниця L-каналу не була здатна переносити Ca²⁺ через мембрану, але суттєво змінювала ефективність його транспортування α_1 -субодиницею [54]. За електрофізіологічними та фармакологічними особливостями потенціалкервані Ca²⁺-канали поділяють на 6 класів (L, T, N, P, R та Q).

Потенціалкервані Ca²⁺-канали поширені переважно у збудливих тканинах. Більше того, вважається, що для секреторних клітин невласним є надходження позаклітинного Ca²⁺ через потенціалкервані Ca²⁺-канали, а лише через депокеровані Ca²⁺-канали. Тим не менше, у слинних залозах личинки *Chironomus plumosus* з використанням методу фіксації потенціалу в умовах внутрішньоклітинної перфузії зареєстровано низькопороговий вхідний трансмембранний струм за наявності лише концентраційного Ca²⁺-градієнта, який помірно блокується верапамілом і нітрендипіном [9-11, 17]. Крім того, встановлено збільшення вмісту Ca²⁺ у тканині слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* за умов гіперкалієвої деполяризації [15]. Ідентифіковані також низько- і високопорогові потенціалкервані Ca²⁺-канали у плазматичній мембрані слинних залоз амазонської п'явки *Haementeria ghilianii* [176]. Є докази наявності потенціалкерваних Ca²⁺-каналів у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Drosophila melanogaster* [28].

Рецепторкервані канали активуються внаслідок взаємодії їхніх рецепторів із позаклітинними лігандами. До них належать, зокрема, **нікотинові холінорецептори** – інтегральні мембранні білки плазматичної мембрани, які відповідають за зв'язування ацетилхоліну. Нікотиновий холінорецептор сам формує катіонний канал (тобто є іонотропним) і забезпечує дифузію катіонів Na⁺ у клітину та K⁺ з клітини, хоча канал може бути проникним і для катіонів Ca²⁺. За фізіологічних умов селективність каналу до одновалентних катіонів у 3-5 разів вища, ніж до Ca²⁺. Важливу роль нікотинові холінорецептори відіграють у синаптичній передачі в головному мозку [67].

P2X-рецептори є неселективними АТФ-чутливими катіонними каналами, що можуть швидко (протягом 10 мс) збільшувати проникність мембрани для Ca²⁺, K⁺ і Na⁺ [132]. Вони поширені переважно у збудливих клітинах (клітинах гладеньких м'язів, нейронах та гліальних клітинах). Ідентифіковано 7 генів, які кодують субодиниці P2X-рецептора: P2X₁, P2X₂, P2X₃, P2X₄, P2X₅, P2X₆ і P2X₇. Кожна субодиниця має 2 трансмембранних сегменти і внутрішньоклітинну петлю (приблизно 280 амінокислотних залишків). Канал формується як мультимер із кількох субодиниць. Особливістю P2X₇-

рецептора є те, що за низьких концентрацій двовалентних катіонів і за довготривалої дії АТФ його катіонний канал може перетворитися на пору, проникну для іонів і молекул розміром до 900 Д [132]. Ациноси підщелепних слинних залоз дають відповіді на АТФ і його аналоги, що дуже подібні до відповідей клітин лінії НЕК293, у геном яких вбудували ген P2X₄-рецепторів [45]. Виявлено також, що P2X₄- та P2X₇-рецептори наявні у клітинах проток підшлункової залози шурів [88], а в ацинусах цієї залози вони трапляються дуже рідко [133]. Є функціональні докази наявності P2X-рецепторів у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* [5, 21].

Депокеровані Ca²⁺-канали (store-operated Ca²⁺-channels, SOCC, або Ca²⁺ release-activated Ca²⁺ current channel, CRAC-channel) активуються при вичерпанні ендоплазматичного пулу Ca²⁺. Вони мають однакову провідність для Ca²⁺, Na⁺ і Ba²⁺, їхня активність залежить від концентрації вільного Ca²⁺ у внутрішньоклітинних депо та у цитозолі [113].

Дотепер депокеровані Ca²⁺-канали ще не клоновані, тому нічого не відомо про структурні компоненти каналів, які відповідають за селективність і ворітні функції. Припускають, що компонентами депокерованих Ca²⁺-каналів можуть бути білки TRP1, TRP3, TRP4, TRP5, TRP6, TRP7 [130, 180] або комплекс ORA11/CRACM1/olf186-F [157]. Незважаючи на підвищену увагу до дослідження депокерованого («ємнісного») входу Ca²⁺ протягом останніх 15 років, молекулярний механізм цього процесу досі не встановлений. Висунуто декілька гіпотез, які ми розглянемо нижче з огляду на їхню складність.

На сьогодні вважається, що «ємнісний» вхід Ca²⁺ є одним із основних механізмів його входу в електронезбудливі секреторні клітини, зокрема в ацинарні клітини підшлункової [103] та підщелепної залози [113, 115].

Na⁺-Ca²⁺-обмінник виводить Ca²⁺ з цитоплазми у позаклітинне середовище проти його електрохімічного градієнта, використовуючи енергію електрохімічного Na⁺-градієнта. Функціонування обмінника залежить від Na⁺- і Ca²⁺-градієнтів, тому за певних умов (наприклад, за підвищеної [Na⁺]_i) він може працювати у зворотному напрямку.

Вважається, що процес транспортування обмінником іонів є двостадійним. Спочатку Na⁺ зв'язується з обмінником на зовнішньому боці плазматичної мембрани, транспортується у клітину та звільняється. Лише тоді Ca²⁺ зв'язується і транспортується у протилежному напрямку [89, 97, 99].

Система Na⁺-Ca²⁺-обміну відіграє, очевидно, важливу роль у підтриманні відповідного рівня [Ca²⁺]_i, хоча спорідненість катіонів Ca²⁺ до переносника є порівняно невеликою ($K_{0,5} = 1,5$ мкмоль) [56]. Напевно, на цю систему припадає основне навантаження у початковий момент після збудження клітини, коли [Ca²⁺]_i в цитозолі є великою. При зменшенні [Ca²⁺]_i у клітині до 1 мкмоль/л виведення цього катіона забезпечує Ca²⁺-помпа плазматичної мембрани, яка характеризується меншою активністю, але є високоафінною.

Na⁺-Ca²⁺-обмінник NCX1-типу є білком, що складається з 970 амінокислотних залишків і має 9 (а не 11, як вважалося раніше) трансмембранних доменів і велику цитоплазматичну петлю *f*, яка розміщена між 5 і 6 трансмембранними сегментами [126, 127].

Сьогодні важливе значення Na⁺-залежного транспортування Ca²⁺ у збудливих клітинах (наприклад, кардіоміоцитах) не викликає жодних сумнівів. Наявність цього механізму на основі експериментальних досліджень постулюється і у багатьох секреторних клітинах: ацинарних клітинах підшлункової залози [6, 34], клітинах привушних [163] і підщелепних [70] залоз, головних клітинах шлункових залоз [7, 8], гепатоцитах [37].

Проте останнім часом проблемі функціонування обмінника у секреторних клітинах не надають значення. Зокрема, деякі автори вказують, що процес виведення Ca²⁺ з панкре-

ацитів мишей є не Na⁺-залежним [165]. Непідтверджена також наявність Na⁺-Ca²⁺-обмінника у секреторних клітинах з використанням імуногістохімічних і молекулярних методів. Цілком можливо, що у секреторних клітинах ссавців Na⁺-Ca²⁺-обмінник, порівняно з Ca²⁺-помпою плазмалеми, відіграє незначну роль у виведенні Ca²⁺. Тим не менше, доведено важливість Na⁺-Ca²⁺-обміну в регуляції кальцієвого гомеостазу секреторних клітин слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* [13, 18], що ще раз підтверджує неозначність функціонування Na⁺-Ca²⁺-обмінника у різних секреторних клітинах.

Ca²⁺-помпа плазматичної мембрани (plasma membrane Ca²⁺ pump, PMCA) є мінорним компонентом цієї структури, її вміст ніколи не перевищує 0,1% від білків мембрани. У збудливих тканинах вона відіграє мінімальну роль, там переважає Na⁺-Ca²⁺-обмінник, а в інших тканинах помпа є головною системою виведення Ca²⁺ з клітини. Проте навіть у клітинах, де переважає Na⁺-Ca²⁺-обмінник, Ca²⁺-помпа забезпечує підтримання [Ca²⁺]_i нижче того рівня, який може підтримувати Na⁺-Ca²⁺-обмінник.

Афінність Ca²⁺-помпи плазматичної мембрани до Ca²⁺ є досить високою. Співвідношення Ca²⁺/АТФ для Ca²⁺-помпи плазматичної мембрани дорівнює одиниці [54].

Очищена Ca²⁺-помпа плазматичної мембрани вперше була виділена в 1979 р. [129], а в 1988 р. клонована [154, 172]. У складі помпи є 10 трансмембранних сегментів; N-кінець (90 амінокислотних залишків) є повернутим у цитоплазму. Частина молекули, що включає трансмембранні сегменти 4 і 5, є активним центром і здатна зв'язувати АТФ. Біля десятого сегменту міститься сайт зв'язування кальмодуліну.

Молекула Ca²⁺-помпи плазматичної мембрани кодується 4 генами – *PMCA1* [134], *PMCA2* [43], *PMCA3* [175] та *PMCA4* [134]. Дві ізоформи Ca²⁺-помпи плазматичної мембрани (*PMCA1* та *PMCA4*) експресуються у клітинах усіх тканин, а дві інші (*PMCA2* та *PMCA3*) є більш тканиноспецифічними. Кількість ізоформ білка завдяки альтернативному сплайсингу є значно більшою [84].

Цікаво, що фосфоліпіди здатні підвищувати спорідненість Ca²⁺-помпи плазматичної мембрани до Ca²⁺. Тому можливо, що у стані спокою фосфоліпіди мембрани перманентно активують помпу на 50% від її максимальної функціональної активності [128]. Така активація необхідна з огляду на те, що у стані спокою існує пасивна дифузія Ca²⁺ у цитозоль із зовнішнього середовища та з внутрішньоклітинних депо, механізм якої залишається невідомим.

Ca²⁺-помпа плазматичної мембрани відіграє важливу роль у підтриманні внутрішньоклітинного Ca²⁺-гомеостазу секреторних клітин, що було доведено для ацинарних клітин підшлункової залози [108, 165], слинних залоз ссавців [3, 27, 108], шлункових залоз [7], секреторних клітин слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* [16, 18].

Кальцієві депо секреторних клітин і їхні Ca²⁺-транспортувальні системи. Відомо, що здатність накопичувати Ca²⁺ та вивільняти його у відповідь на стимуляцію мають такі клітинні органоїди: ендоплазматичний ретикулум [160], комплекс Гольджі [121, 146], секреторні гранули [77], ендосоми [75] та ядерна оболонка (перинуклеарний простір) [76, 79, 80]. Мітохондрії також здатні акумулювати і вивільняти Ca²⁺ [148], проте акумуляція ними Ca²⁺ відбувається здебільшого під час вивільнення його з інших депо, а вихід Ca²⁺ з мітохондрій є спонтанним, тобто не запускається агоністами.

Основним депо Ca²⁺ у секреторних клітинах є ендоплазматичний ретикулум. Більше того, вважається, що під час фізіологічної стимуляції початкове зростання [Ca²⁺]_i відбувається завдяки вивільненню його з ендоплазматичного ретикулуму [160], і це було прямо продемонстровано [123]. У стані спокою [Ca²⁺]_i всередині ендоплазматичного

ретикулуму становить приблизно 0,1–0,3 ммоль/л, а під час максимальної стимуляції знижується до 20–40 мкмоль/л і залишається на такому рівні протягом усього періоду стимуляції. У мембранах ендоплазматичного ретикулуму є принаймні два типи каналів вивільнення Ca^{2+} ($\text{I}\Phi_3$ -чутливі та ріанодинчутливі Ca^{2+} -канали), а також одна система його поглинання – Ca^{2+} -помпа ендоплазматичного ретикулуму.

Інозитол-1,4,5-трифосфат, або $\text{I}\Phi_3$, є єдиним серед інозитолфосфатів, здатним вивільняти Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо, взаємодіючи з рецептором у мембрані ендоплазматичного ретикулуму, що вперше був виділений з мозочка щурів у вигляді глікопротеїну масою 260 кДа [161]. Вважається також, що $\text{I}\Phi_3$ -чутливі рецептори ($\text{I}\Phi_3\text{R}$ чи, точніше, **$\text{I}\Phi_3$ -чутливі Ca^{2+} -канали**) також відповідають за вивільнення Ca^{2+} зі секторних гранул [143] і апарату Гольджі [146].

$\text{I}\Phi_3$ -чутливий Ca^{2+} -канал має вигляд квадрата з довжиною сторони приблизно 25 нм [117]. Він складається з чотирьох субодиниць. Відомі три ізоформи субодиниць цього рецептора (I–III). Вони відрізняються за будовою та експресією у тканинах. Найкраще дослідженою ізоформою є $\text{I}\Phi_3$ -чутливий Ca^{2+} -канал типу I. Його амінокислотну послідовність можна поділити на три ділянки: (1) великий гнучкий N-кінцевий домен, який зв'язує $\text{I}\Phi_3$ і змінює при цьому свою конформацію, що приводить до відкриття каналу, (2) короткий гідрофобний C-кінцевий домен, який включає шість трансмембранних сегментів, та (3) центральний регуляторний домен. C-кінцеві домени кожної субодиниці формують Ca^{2+} -канал. Центральна частина $\text{I}\Phi_3$ -чутливого Ca^{2+} -каналу містить сайти зв'язування для різноманітних модуляторів, таких як Ca^{2+} [120], кальмодулін і АТФ [117]. Там також є сайти фосфорилування для протеїнкінази А, цГМФ-залежної протеїнкінази, Ca^{2+} -кальмодулінзалежної протеїнкінази II, протеїнкінази С та для тирозинкіназ [68]. Модулюючий вплив на канал має як цитозольний, так і люмінальний Ca^{2+} . Зокрема, ефект цитозольного Ca^{2+} є біфазним (при $[\text{Ca}^{2+}]_i < 300$ нм – стимулюючий, а при $[\text{Ca}^{2+}]_i > 300$ нм – інгібуючий) [63]. Це має важливе значення у поширенні Ca^{2+} -сигналів у клітинах.

Утворюється в клітині $\text{I}\Phi_3$ у результаті рецепторопосередкованої активації певних ізоформ фосфоліпази С. Рецептори після зв'язування агоніста піддаються конформаційним змінам і активують G-білки Gq-родини, що призводить до їхнього розщеплення на α -субодиницю та комплекс із β - і γ -субодиниць. Активна α -субодиниця G-білка стимулює β -ізоформу фосфоліпази С (PLC- β) [118]. Активована PLC- β гідролізує мембраноасоційований ліпід, фосфатидилінозитол-4,5-біфосфат, з утворенням 1,2-діацилгліцеролу і $\text{I}\Phi_3$. Діацилгліцерол залишається у плазматичній мембрані й активує протеїнкіназу С [131]. $\text{I}\Phi_3$ дифундує в цитозоль, де і зв'язується із $\text{I}\Phi_3$ -чутливими Ca^{2+} -каналами [164].

До рецепторів, які активують β -ізоформу фосфоліпази С, належать такі метаболічні рецептори плазматичної мембрани, як M_1 -, M_3 - і M_5 -холінорецептори [57], рецептори серотоніну [183], гістаміновий H_1 -рецептор [90, 110] та більшість типів P2Y-рецепторів [178].

$\text{I}\Phi_3$ -чутливі Ca^{2+} -канали ідентифіковані в гепатоцитах [118], в ацинарних клітинах підщелепної залози мишей [107] і щурів [14], привушної залози щурів [182] та в ацинарних клітинах підшлункової залози як мишей, так і щурів [107, 124], у слинних залозах личинки *Chironomus plumosus* [22].

Ріанодинчутливий Ca^{2+} -канал (ріанодиновий рецептор, RyR) є ще одним каналом вивільнення Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулуму. Вперше він був описаний у сар-

коплазматичному ретикулумі клітин скелетних і серцевого м'язів [66], проте сьогодні відомо про його широке розповсюдження і в інших клітинах. Цей рецептор-канал отримав свою назву через те, що рослинний алкалоїд ріанодин здатний специфічно впливати на нього. Пессах і Зімані [141] ідентифікували чотири різних сайти зв'язування ріанодину з константою дисоціації у діапазонах від 1 до 4 нмоль/л, від 30 до 50 нмоль/л, від 500 до 800 нмоль/л і від 2 до 4 мкмоль/л відповідно. Було описано також [44, 47] складний ефект, спричинений збільшенням концентрації ріанодину на провідність каналу: у концентрації від 5 до 40 нмоль/л він збільшує ймовірність відкриття каналу й індукує випадкову появу субнормального стану з приблизно ½ базальної провідності; у концентрації > 50 нмоль/л – стабілізує канал у субнормальному стані з ½ базальної провідності; за концентрації > 70 мкмоль/л – індукує перехід у стан з низькою провідністю (приблизно ¼ від базального рівня), і за концентрації > 200 мкмоль/л ріанодин спричиняє повну блокаду, яка є незворотною у масштабі часу досліджень.

Структура ріанодинчутливого Ca²⁺-каналу є подібною до структури ІФ₃-чутливого Ca²⁺-каналу. Ріанодинчутливий Ca²⁺-канал є тетрамером і має вигляд чотирилистої конюшини, що вписується у квадрат зі сторонами 27 нм, посередині якого наявна пора діаметром 1-2 нм [151]. На сьогодні ідентифіковано щонайменше три ізоформи ріанодинчутливих Ca²⁺-каналів, які характерні відповідно для скелетних м'язів (тип 1), серцевого м'яза (тип 2) і мозку (тип 3) [158].

Ріанодинчутливий Ca²⁺-канал є катіонпровідним каналом з низькою катіонною селективністю і досить великою провідністю. За умови, що носієм струму є Ca²⁺, провідність цього каналу лежить у межах від 80 пСм (серцевий м'яз) до 172 пСм (скелетний м'яз) [111, 156]. Якщо носієм струму є моновалентні катіони, наприклад, Na⁺ і K⁺, то максимальна провідність є вищою і становить відповідно 600-1000 пСм [114, 156]. Незважаючи на те, що в односольових розчинах провідність каналу вища для моновалентних катіонів, у змішаних розчинах провідність каналу є вищою для Ca²⁺.

На відміну від ІФ₃-чутливих Ca²⁺-каналів, для ріанодинчутливих Ca²⁺-каналів не встановлено природного ліганду, що активує їх. На цю роль у нем'язових клітинах претендує цАДФ-рибоза (цАДФР) – природний метаболіт НАД⁺ [105, 184]. Синтез цАДФ-рибози у клітині здійснюється трансмембранним глікопротеїном CD38 (АДФ-рибозилциклазою) з молекулярною масою 42-45 кДа [92, 94]. Відомо також, що в ацинарних панкреатитах холецистокінін викликає утворення цАДФ-рибози та вивільнення Ca²⁺ через ріанодинчутливі Ca²⁺-канали [50]. Підтвердженням цього є, зокрема, блокування антагоністом ріанодинчутливих Ca²⁺-каналів 8-NH₂-цАДФ-рибозою локальних Ca²⁺-спалахів у апікальній ділянці, викликаних фізіологічними концентраціями холецистокініну [174]. Проте механізм спряження холецистокінінових рецепторів з АДФ-рибозилциклазою невідомий.

Ріанодинчутливий Ca²⁺-канал регулюється та модулюється багатьма речовинами, зокрема Ca²⁺, кальмодуліном, АТФ, протеїніназами тощо [184]. Залежність його стану від [Ca²⁺]_i описується дзвоноподібною кривою, як і у випадку з ІФ₃-чутливими Ca²⁺-каналами: при низьких [Ca²⁺]_i (1–100 мкмоль/л) ріанодинчутливі Ca²⁺-канали відкриваються, а при високих (> 500 мкмоль/л) – закриваються [46]. Вважається, що завдяки цьому для ріанодинчутливих Ca²⁺-каналів та ІФ₃-чутливих Ca²⁺-каналів характерне Ca²⁺-індуковане вивільнення Ca²⁺ (Ca²⁺-induced Ca²⁺ release, CICR) [38].

Ріанодинчутливі Ca²⁺-канали відіграють важливу роль в ацинарних клітинах підщелепної [14, 107] і привушної [61, 181, 182] залоз, слинних залоз личинки *Chirono-*

mus plumosus [1, 22]. Наявність трьох ізоформ ріанодинчутливого Ca^{2+} -каналу продемонстрована в ацинарних клітинах підшлункової залози, причому рівень експресії каналів типу 1 є набагато вищий, ніж інших двох типів [65].

Ca^{2+} -помпа ендоплазматичного (саркоплазматичного) ретикулуму (sarco(endoplasmic reticulum Ca^{2+} pump, SERCA) є обов'язковим компонентом цього внутрішньоклітинного депо, оскільки вона є чи не єдиним білком, що забезпечує акумуляцію Ca^{2+} у ньому. У саркоплазматичному ретикулумі її вміст досягає 70% від усіх мембранних білків.

Ca^{2+} -помпа ендоплазматичного ретикулуму за структурою активного центру та високою спорідненістю до Ca^{2+} є дуже подібною до Ca^{2+} -помпи плазматичної мембрани. Вона також складається з 10 трансмембранних сегментів, дещо коротшого N-кінця та двох основних цитозольних фрагментів, один із яких містить каталітичний сайт. Основною відмінністю між Ca^{2+} -помпами ендоплазматичного ретикулуму та плазматичної мембрани є відсутність у першій довгого C-кінцевого хвоста, що містить сайт зв'язування кальмодуліну. Крім того, особливостями Ca^{2+} -помпи ендоплазматичного ретикулуму є те, що вона транспортує два катіони Ca^{2+} при розщепленні однієї молекули АТФ [54], специфічно інгібується тапсигаргіном [167] і циклопіазоновою кислотою, а також регулюється малим гідрофобним білком фосфоламбаном [162]. Ca^{2+} -помпа ендоплазматичного ретикулуму наявна також у мембранах комплексу Гольджі [152] та зовнішній ядерній мембрані [72, 93].

Згідно з даними літератури, є 3 гени, що кодують Ca^{2+} -помпу ендоплазматичного ретикулуму – *SERCA1*, *SERCA2*, *SERCA3* [83], але кількість ізоформ за рахунок альтернативного сплайсингу є більшою.

Показана наявність Ca^{2+} -помпи в ендоплазматичному ретикулумі ацинарних клітин підщелепної залози [3], шлункових залоз [7] та у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* [22]. Ізоформу SERCA2a ідентифіковано в ацинарних клітинах підшлункової залози, ізоформа SERCA2b – підшлункової та підщелепної залози, SERCA3 – підшлункової залози [108].

У внутрішній мембрані **мітохондрій** наявні такі Ca^{2+} -транспортувальні системи:

- 1) Ca^{2+} -уніпортер, який транспортує катіони Ca^{2+} в мітохондрію за рахунок електрхімічного градієнта H^+ і, найімовірніше, має каналну природу [102];
- 2) Na^+ - Ca^{2+} -обмінник, що переважає у збудливих клітинах [55];
- 3) H^+ - Ca^{2+} -обмінник, який здебільшого поширений у незбудливих клітинах [64, 85];
- 4) циклоспоринчутлива мітохондріальна пора (permeability transition pore), активація якої відбувається внаслідок перевантаження матриксу катіонами Ca^{2+} [119].

За фізіологічних умов Na^+ - Ca^{2+} -обмінник і H^+ - Ca^{2+} -обмінник забезпечують вихід Ca^{2+} з мітохондрій.

Особливістю депонування Ca^{2+} у мітохондріях є те, що в них у вільному стані міститься менше 1% Ca^{2+} , решта перебуває у зв'язаному, але здатному до обміну стані. Характерною особливістю вивільнення Ca^{2+} з мітохондрій є значна тривалість процесу, швидкість якого менша, ніж швидкість захоплення ними Ca^{2+} . Мітохондрії, на відміну від інших кальцієвих депо, не генерують фізіологічних Ca^{2+} -сигналів.

Поглинання Ca^{2+} мітохондріями має подвійне значення. По-перше, наявність Ca^{2+} у матриксі мітохондрій є необхідною, оскільки Ca^{2+} активує три ферменти циклу трикарбонових кислот: піруватдегідрогеназу, α -кетоглутаратдегідрогеназу та ізоцитратдегідрогеназу [86]. По-друге, мітохондрії здатні дуже точно регулювати зміни $[\text{Ca}^{2+}]$ у цитозолі, впливаючи на Ca^{2+} -сигнали. Є два основні механізми таких впливів:

- а) мітохондрії функціонують як бар'єр на шляху Ca²⁺-хвиль, зокрема в панкреатитах відділяють сигнали апікального полюса від решти клітини [159];
- б) мітохондрії швидко очищують від Ca²⁺ такі обмежені мікродомени, як устя каналу, запобігаючи надмірному локальному підвищенню [Ca²⁺] (див. [152]).

У мітохондріях секреторних клітин шлункових залоз ідентифіковано і досить детально охарактеризовано Ca²⁺-уніпортер, у мітохондріях печінки – Ca²⁺-уніпортер, Na⁺-Ca²⁺- і H⁺-Ca²⁺-обмінники [7, 26]. Ідентифіковано Ca²⁺-уніпортер і у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* [25]. Показано також, що менадіоніндукована деполяризація мітохондріальної мембрани, яка призводить до апоптозу ацинарних клітин підшлункової залози, зумовлена активацією мітохондріальної пори [73].

Ca²⁺-транспортувальні системи інших органел. Віднедавна вважається, що секреторні гранули також виконують роль депо Ca²⁺. Вони містять Ca²⁺ у високій концентрації (приблизно 10 ммоль/л [77], а у їхніх мембранах наявні системи поглинання та вивільнення Ca²⁺.

За вивільнення Ca²⁺ зі секреторних гранул відповідають IФ₃-чутливі Ca²⁺-канали [143] або гіпотетичні рецептори НААДФ. Вхід Ca²⁺ у секреторні міхурці є нечутливим до тапсигаргіну [77], тому він не здійснюється за участі Ca²⁺-помпи ендоплазматичного ретикулу. Зважаючи на те, що внутрішньоміхурцеве середовище є кислим, Ca²⁺ може транспортуватися Ca²⁺-H⁺-обмінником. На користь цієї гіпотези свідчить те, що два різних протонифори (монензин і нігеріцин) швидко пригнічують Ca²⁺-спалахи в апікальному полюсі ацинарних панкреатитів, викликані ацетилхоліном чи IФ₃ [169]. Це може бути пояснено іонофорвикликаним зниженням [Ca²⁺] у гранулах завдяки пригніченню Ca²⁺-H⁺-обмінника та/або зниженням ступеня іонізації інтрагранулярного Ca²⁺ через підвищення рН.

У мембранах ядерної оболонки є системи активного та пасивного транспортування Ca²⁺. Доведена локалізація IФ₃-чутливих Ca²⁺-каналів і ріанодинчутливих Ca²⁺-каналів у внутрішній та зовнішній ядерних мембранах [77, 79, 93]. У зовнішній ядерній мембрані, на відміну від внутрішньої, наявна Ca²⁺-помпа ендоплазматичного ретикулу [72, 93]. Тому механізм повернення [Ca²⁺] до нормального рівня після його вивільнення у нуклеоплазму достеменно не відомий. Можливо, Ca²⁺ дифундує з ядра назовні через відкриті ядерні пори, а потім поглинається Ca²⁺-помпою.

Питання проникності ядерних пор для Ca²⁺ залишається відкритим. Електрофізіологічні дослідження ізольованих ядер виявили, що іонна провідність ядерних пор може кардинально змінюватися і що лише мала кількість пор є відкритими за умов застосування петч-клемпу [153]. З іншого боку, показано, що зміни [Ca²⁺] ззовні від ізольованих ядер ацинарних панкреатитів швидко призводять до аналогічних змін усередині ядра [74]. Це свідчить, що проникність ядерних пор для Ca²⁺ дає йому змогу вільно дифундувати з цитоплазми в ядро та навпаки. Показано також, що ядерні пори є проникними для Ca²⁺ навіть після вичерпання кальцієвого депо ядерної оболонки [74].

Нікотинацидаденіндинуклеотидфосфат – новий внутрішньоклітинний посередник вивільнення Ca²⁺. У 1987 р. встановлено, що невідома домішка у придбаному реактиві НАДФ вивільняє Ca²⁺ з мікросом яєць морського їжака [58]. Цією домішкою виявився нікотинацидаденіндинуклеотидфосфат (НААДФ) [106]. Сьогодні не відомий специфічний рецептор НААДФ, а механізм вивільнення Ca²⁺ під дією НААДФ залишається незрозумілим. Існує кілька моделей НААДФ-індукованого вивільнення Ca²⁺ (рис. 1).

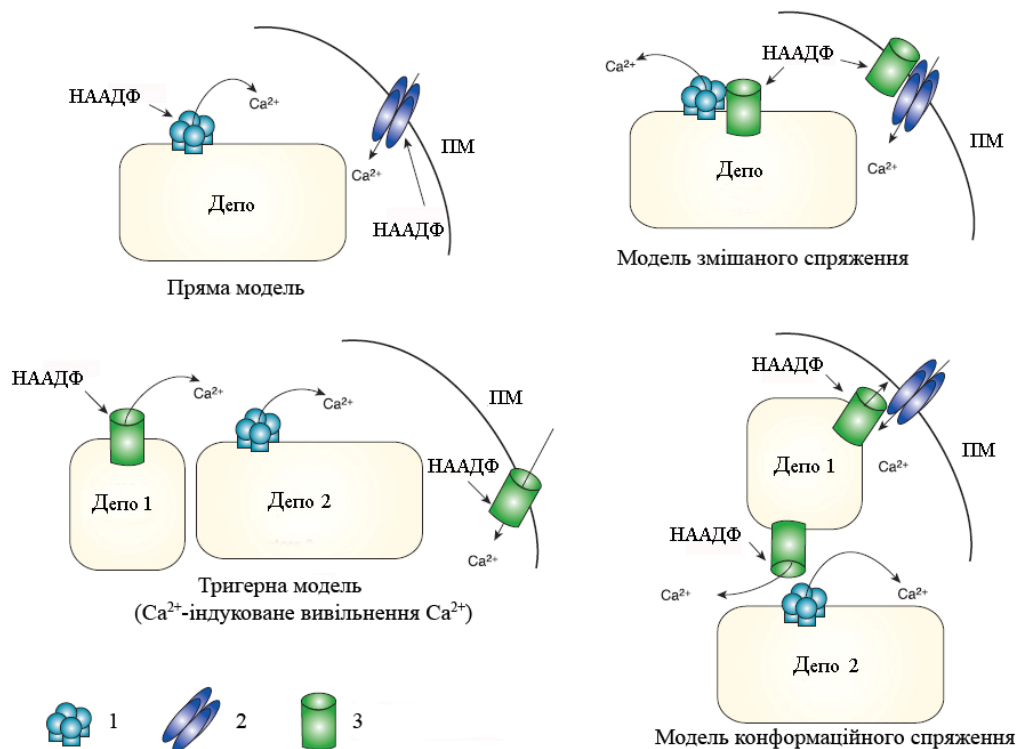


Рис. 1. Ймовірні механізми вивільнення Ca^{2+} під дією НААДФ: ПМ – плазматична мембрана; 1 – ріанодинчутливий Ca^{2+} -канал або IP_3 -чутливий Ca^{2+} -канал; 2 – Ca^{2+} -канали плазматичної мембрани; 3 – «рецептор НААДФ» (запозичено з [69]).

Найпростіша (пряма) модель передбачає пряме зв'язування НААДФ із Ca^{2+} -каналами внутрішньоклітинних депо або плазмалеми, що призводить до їхньої активації. Деякі автори вказують на наявність прямої взаємодії НААДФ з очищеними ріанодинчутливими Ca^{2+} -каналами скелетних м'язів [91], а деякі заперечують це [60].

Тригерна модель постулює наявність окремого рецептора НААДФ (який одночасно є Ca^{2+} -каналом), локалізованого в мембрані кальцієвого депо з кислим середовищем (депо 1). Локальне вивільнення Ca^{2+} з цього депо активує IP_3 -чутливі Ca^{2+} -канали та/або ріанодинчутливі Ca^{2+} -канали ендоплазматичного ретикулуму (депо 2) шляхом Ca^{2+} -індукованого вивільнення Ca^{2+} , що призводить до поширення Ca^{2+} -сигналу [51].

Модель змішаного спряження виникла на основі досліджень впливу НААДФ на Ca^{2+} -сигналізацію ацинарних панкреатитів. Було показано, що хоча НААДФ і активує ріанодинчутливі Ca^{2+} -канали, високі (мікромольні) його концентрації десенситизують лише НААДФ-стимульоване вивільнення Ca^{2+} , але не впливають на таке вивільнення під впливом цАДФ-рибози [74]. Тому вважається, що НААДФ-зв'язуючий білок сам не є Ca^{2+} -каналом, а швидше за все інтегральним мембранним білком, який може взаємодіяти з ріанодинчутливими Ca^{2+} -каналами ендоплазматичного ретикулуму (а, можливо, і каналами внутрішньоклітинних кальцієвих депо з кислим середовищем чи плазматичної мембрани) [74].

Згідно з моделлю конформаційного спряження, НААДФ взаємодіє з НААДФ-регульованим Ca^{2+} -каналом, що міститься в мембрані певного депо. Цей канал може

вивільняти Ca²⁺ у відповідь на НAADФ або прямо взаємодіяти з іншими каналами вивільнення Ca²⁺ (IФ₃-чутливими Ca²⁺-каналами, ріанодинчутливими Ca²⁺-каналами) чи Ca²⁺-каналами плазматичної мембрани. Це єдина модель, яка може пояснити той факт, що у Т-лімфоцитах високі концентрації НAADФ десенситизують Ca²⁺-канали [36]. Ймовірно, що у різних клітинах наявні різні підтипи гіпотетичних рецепторів НAADФ, які по-різному функціонують. Можлива також одночасна наявність кількох механізмів вивільнення Ca²⁺ під впливом НAADФ у певних клітинах.

Ацинарні панкреатици були першими клітинами ссавців, у яких виявлено НAADФ-індуковані повторювані локальні Ca²⁺-спайки в апікальній ділянці, що інактивуються за високої концентрації НAADФ [51]. Інактивація НAADФ-рецепторів високими концентраціями агоніста (кілька мкмоль/л) блокує Ca²⁺-спайки, викликані холецистокініном у фізіологічних концентраціях (1-10 пікомоль/л) [51, 52], проте не впливає на Ca²⁺-спайки, викликані ацетилхоліном [52] чи бомбезином [48]. Таким чином, активація гіпотетичних рецепторів НAADФ відбувається лише за дії холецистокініну. Останнє узгоджується з відомим фактом, що за дії холецистокініну спостерігається синтез цАДФ-рибози ферментом АДФ-рибозилциклазою [92], що також має НAADФ-синтетичну активність [29].

Із яких внутрішньоклітинних депо НAADФ вивільняє Ca²⁺ в ацинарних клітинах? На це питання важко відповісти, бо апікальний полюс цих клітин, де відбувається вивільнення Ca²⁺ під дією НAADФ, містить два великі кальцієві пули, локалізовані в ендоплазматичному ретикулумі та секреторних гранулах [78]. Хоча прямих доказів немає, функціональні дослідження вказують на наявність НAADФ-чутливих структур як в ендоплазматичному ретикулумі, так і в секреторних гранулах ацинарних панкреатитів [74, 177].

Ca²⁺-функціональна одиниця. Функціонування різних Ca²⁺-транспортувальних систем є взаємозалежним за рахунок позитивних прямих і негативних зворотних зв'язків між ними. Ці зв'язки значною мірою реалізуються через зміну локальної [Ca²⁺] біля устя Ca²⁺-каналу (локальних кальцієвих мікродоменів), оскільки функціонування багатьох Ca²⁺-транспортувальних систем є Ca²⁺-залежним процесом. Для пояснення ролі узгодженості функціонування різних Ca²⁺-транспортувальних систем у Ca²⁺-сигналізації була запропонована концепція Ca²⁺-функціональних одиниць [19].

Оскільки прямі та зворотні зв'язки між Ca²⁺-транспортувальними системами є обмежені в просторі та часі, у клітині формуються цілі їхні ансамблі – Ca²⁺-функціональні одиниці, з принципово новими властивостями і новими функціями, виконати які неможливо, якщо виходити з властивостей окремих їхніх складових частин. Обов'язковою умовою формування Ca²⁺-функціональної одиниці є входження до її складу системи пасивного і системи активного транспортування Ca²⁺ та мембрани, що забезпечує компартменталізацію цих катіонів. Вона може перебувати у трьох станах. *Стан спокою* характеризується наявністю динамічної рівноваги між вхідним і вихідним (відносно цитозолу) потоками Ca²⁺. У *стані активності* вхідний потік Ca²⁺ переважає над вихідним, внаслідок чого цитозольна [Ca²⁺] зростає. У *стані інактивації* – навпаки, переважає вихідний потік, і система повертається до стану спокою.

Ca²⁺-функціональну одиницю плазматичної мембрани секреторних клітин слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* формують Na⁺-Ca²⁺-обмінник, Ca²⁺-помпа і потенціалкеровані Ca²⁺-канали плазматичної мембрани. Це припущення базується на тому факті, що між Na⁺-Ca²⁺-обмінником і Ca²⁺-помпою плазматичної мембрани, з одного боку, та Na⁺-Ca²⁺-обмінником і потенціалкерованими Ca²⁺-каналами, з іншого,

існують тісні функціональні зв'язки навіть за умов внутрішньоклітинної перфузії [12, 24]. Стан Ca^{2+} -функціональної одиниці у цьому випадку визначається залежністю Na^+ - Ca^{2+} -обміну від активності Na^+ - K^+ -помпи [23].

Ендоплазматична Ca^{2+} -функціональна одиниця секреторних клітин слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* об'єднує Ca^{2+} -помпу ендоплазматичного ретикулуму, $\text{I}\Phi_3$ -чутливі та ріндинчутливі Ca^{2+} -канали. Як наслідок, 1) додавання ріанодину в концентрації 500 нмоль/л до середовища інкубування залоз, оброблених сапоніном, спричиняє збільшення вмісту Ca^{2+} у їхній тканині [22]; 2) у пермеабілізованих клітинах активація $\text{I}\Phi_3$ -чутливих Ca^{2+} -каналів інозитолтрифосфатом (10 мкмоль/л) запобігає одночасній активації ріндинчутливих Ca^{2+} -каналів (5 нмоль/л ріанодину) чи навпаки [1]; 3) в інтактних клітинах активація $\text{I}\Phi_3$ -чутливих Ca^{2+} -каналів позаклітинним аденозинтрифосфатом (100 мкмоль/л; опосередковано через $\text{P}2\text{Y}$ -рецептори) потенціює активацію ріндинчутливих Ca^{2+} -каналів (10 нмоль/л ріанодину) [4]; 4) гепарин (500 мкг/мл) спричиняє збільшення вмісту Ca^{2+} у тканині сапонізованих залоз, але тільки за наявності у середовищі ріанодину в концентрації 5 нмоль/л [1].

Певні Ca^{2+} -транспортувальні системи можуть входити до кількох Ca^{2+} -функціональних одиниць. Ендоплазматично-мітохондріальна Ca^{2+} -функціональна одиниця секреторних клітин слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* складається з каналів вивільнення Ca^{2+} ендоплазматичного ретикулуму та Ca^{2+} -уніпортера мітохондрій, оскільки дія на вміст Ca^{2+} у тканині слинних залоз ріанодину та рутенію червоного, а також $\text{I}\Phi_3$ та рутенію червоного за умов поєднання їх у середовищі інкубації є неадитивною [2]. Не можна відкидати також ймовірності існування взаємодії між Na^+ - Ca^{2+} -обмінником чи H^+ - Ca^{2+} -обмінником мітохондрій та Ca^{2+} -помпою ендоплазматичного ретикулуму.

Припущення про існування Ca^{2+} -функціональних одиниць співзвучне з гіпотезою Кансели та співавт. [52], якою постулюється наявність **осциляторної одиниці**, що складається з ріанодин- та $\text{I}\Phi_3$ -чутливого Ca^{2+} -каналів. Власне функціонування такої осциляторної одиниці забезпечує генерацію, на думку авторів, Ca^{2+} -хвиль у цитоплазмі. Але гіпотеза про об'єднання активних і пасивних Ca^{2+} -транспортувальних систем певної ділянки цитоплазми у Ca^{2+} -функціональну одиницю дає змогу глибше зрозуміти механізми взаємозв'язку між цими системами. Тому поняття « Ca^{2+} -функціональна одиниця» є значно ширшим, ніж «осциляторна одиниця».

Загальна характеристика та класифікація Ca^{2+} -сигналів. Для виконання катіонами Ca^{2+} функції вторинного посередника його концентрація в клітині у стані спокою повинна бути дуже низька, оскільки тривале її підвищення призводить до загибелі клітин [39]. Щоби уникнути появи високої $[\text{Ca}^{2+}]_i$, небезпечної для клітин, концентрація вільного Ca^{2+} в цитозолі підтримується на рівні 100 нмоль/л, що у 10^4 разів менше, ніж $[\text{Ca}^{2+}]_o$ у зовнішньому середовищі.

Одним зі способів жорсткої регуляції $[\text{Ca}^{2+}]_i$ є швидке зв'язування Ca^{2+} з хелато-рами, завдяки чому Ca^{2+} дифундує дуже повільно і на малі відстані в цитоплазмі. Встановлено, що до взаємодії з Ca^{2+} -зв'язувальним білком катіон Ca^{2+} дифундує на відстань 0,1-0,5 мкм [31]. Тому в клітинах наявні механізми сигналізації, що ґрунтуються на генерації коротких локальних підвищень $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (**Ca^{2+} -спайків**) [38]. На сьогодні відомо 2 типи таких елементарних Ca^{2+} -сигналів: Ca^{2+} -пафи (puffs – спалахи) та Ca^{2+} -спарки (sparks – іскри).

Активація групи (кластера) близько розташованих $\text{I}\Phi_3$ -чутливих Ca^{2+} -каналів агоністами приводить до короткочасного, просторово обмеженого підвищення $[\text{Ca}^{2+}]_i$

поблизу кластера. Такі елементарні події називають **Ca²⁺-пафами** [179]. Ca²⁺-пафи є, мабуть, тим типом локального Ca²⁺-сигналу, що виникає у багатьох, якщо не у всіх, незбудливих клітинах. Ці елементарні події мають типове наростання амплітуди від 50 до 600 нмоль/л, поширюються приблизно на 6 мкм і тривають до 1 с. Одночасно може бути зареєстровано близько 100 сайтів таких Ca²⁺-сигналів у малих соматичних клітинах [41]. Вперше їх спостерігали в ооцитах шпорцевої жаби [179].

Ca²⁺-спарки є подібними до Ca²⁺-пафів і зумовлені активацією лише ріанодинчутливих Ca²⁺-каналів, наприклад, у кардіоміоцитах [53]. Вони мають тривалість до 50 мс та поширюються на відстань 2 мкм [152]. Імовірно, що спарки генеруються не поодинокими ріанодинчутливими Ca²⁺-каналами, а їх кластерами [170].

Інший приклад Ca²⁺-сигналу характерний для апікального полюса секреторних клітин, наприклад, екзокринних клітин підшлункової залози [144]. Тут локальний сигнал характеризується повільним часом наростання амплітуди (>1 с) і відносно значним поширенням, до 10 мкм [100], що відрізняє їх від «класичних» Ca²⁺-пафів.

Описані вище Ca²⁺-сигнали самі рідко бувають поодинокими подіями, а їх сукупність формує Ca²⁺-сигнали вищого рівня складності, що характеризуються певними просторово-часовими особливостями. За часовими параметрами їх поділяють на **Ca²⁺-транзїєнти** (тоді мова йде про поодинокі збільшення [Ca²⁺] у цитозолі, підкреслюючи раптовість і минуцїсть цього сигналу) та **Ca²⁺-осциляції**, що складатуться зі серії Ca²⁺-спайків [168]. У багатьох випадках характер агонїстспричинених Ca²⁺-сигналів визначається типом агонїста, його концентрацією та іншими умовами дослїду.

Термін **Ca²⁺-хвилі** застосовують для означення Ca²⁺-сигналів, що з часом поширюються у клітині. Розрізняють локальні та глобальні Ca²⁺-хвилі. Вважається [41], що локальні Ca²⁺-сигнали є пусковими у генерації клітинної відповіді та виступають складовими частинами глобального сигналу. За певних умов Ca²⁺-хвиля, що виникла на апікальному полюсі секреторної клітини, поширюється до базального полюса – локальний Ca²⁺-сигнал перетворюється на глобальний. У механізмі поширення глобальної Ca²⁺-хвилі від апікального полюса до базальної частини клітини беруть участь мітохондрії, ІФ₃-чутливі та ріанодинчутливі Ca²⁺-канали ендоплазматичного ретикулуму. Звісно, межа між локальними і глобальними Ca²⁺-хвилями є досить умовною й у багатьох випадках визначається просторово-часовою роздільною здатністю техніки вимірювання.

Перетворення пафів (спарків) у Ca²⁺-осциляції чи Ca²⁺-хвилі відбувається шляхом Ca²⁺-індукованого вивільнення Ca²⁺ (Ca²⁺-induced Ca²⁺ release, CICR) [38], що полягає в наступному. Елементарне локальне підвищення [Ca²⁺] є неоднорідним, тобто [Ca²⁺] зменшується з віддаленням від кластера рецепторів. Висока [Ca²⁺] біля виходів Ca²⁺-каналів спричиняє їх інактивацію, а дещо нижча на певній відстані активує сусідні кластери ІФ₃-чутливих або ріанодинчутливих Ca²⁺-каналів. Це призводить до генерації наступного Ca²⁺-пафу (спарку) і т. д. Таким чином, Ca²⁺-хвиля поширюється незалежно від наявності ІФ₃ (цАДФ-рибози), який необхідний лише для запуску цієї хвилі.

Структурно-функціональна поляризація секреторних клітин і їх Ca²⁺-транспортувальних систем. Секреторні клітини мають виражену поляризацію у розташуванні органел (рис. 2). Це зумовлено особливостями їхнього функціонування: через базальну мембрану з позаклітинного середовища (крові) у клітину надходять необхідні речовини, а через апікальну мембрану здійснюється секреція; латеральними мембранами клітини контактують між собою.

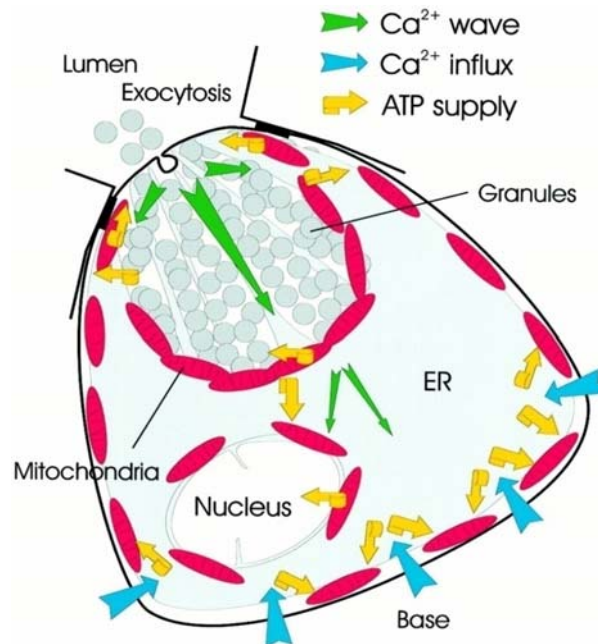


Рис. 2. Ацинарна клітина підшлункової залози: Ca^{2+} wave – Ca^{2+} -хвиля, Ca^{2+} influx – вхід Ca^{2+} у клітину; ATP supply – постачання АТФ; Lumen – порожнина ацинуса; Exocytosis – екзоцитоз; Granules – секреторні гранули; ER – ендоплазматичний ретикулум; Mitochondria – мітохондрія; Nucleus – ядро; Base – базальний полюс клітини; запозичено з [140].

У клітинах ацинусів підшлункової залози ядро зміщене до базального полюса. Ендоплазматичний ретикулум утворює дуже густу систему трубочок у базальній частині клітини й оточує ядро [78]. Меншою мірою він наявний в апікальній частині клітини, де основний об'єм займають секреторні гранули [78]. Доведено, що ендоплазматичний ретикулум базальної частини клітини сполучений з апікальним, утворюючи суцільну систему [145]. Апарат Гольджі міститься безпосередньо біля ділянки зі секреторними гранулами. Мітохондрії розміщені неоднорідно. Дослідження, здійснені за допомогою флуоресцентних зондів Mito Tracker Green і Red, показали, що мітохондрії наявні переважно в перигранулярній (густина – $25,69 \pm 1,58\%$ площі), перинуклеарній ($9,07 \pm 0,97\%$ площі) ділянках та поблизу базальної мембрани ($12,61 \pm 0,77\%$ площі) [96]. Перша група мітохондрій утворює пояс навколо секреторних гранул і апарату Гольджі, відділяючи їх від ядра, латеральної мембрани та базальної частини клітини [96, 140]. Показано, що ці мітохондрії утворюють стабільні комплекси з апаратом Гольджі та контактують з ендоплазматичним ретикулумом [62]. Друга група мітохондрій оточує ядро, але ніколи прямо не контактує з ядерною оболонкою, яка відділена від них кількома шарами ендоплазматичного ретикулуму [140]. Третя група мітохондрій міститься в безпосередній близькості до базолатеральної мембрани. У проміжку між ними і плазмалею ендоплазматичний ретикулум відсутній [96, 140].

У секреторних клітинах розподіл Ca^{2+} -транспортувальних систем теж є поляризований. В ацинарних клітинах підшлункової залози більшість $\text{I}\Phi_3$ -чутливих Ca^{2+} -каналів розташовані в основному, як було показано імуногістохімічним аналізом, біля апікальної мембрани [107, 124], а також у внутрішній ядерній мембрані [79, 93]. Більшість ріа-

нодинчутливих Ca²⁺-каналів, згідно з імунохімічним аналізом [109], розміщено в базальній частині цих клітин; в апікальній частині їх небагато, але у ділянці, де починаються агоністспричинені сигнали, вони повністю відсутні.

З використанням високомолекулярних декстранів і конфокальної мікроскопії продемонстровано, що вихід Ca²⁺ з ацинарних панкреатитів відбувається переважно в апікальній ділянці, що вказує на відповідне поширення Ca²⁺-помп плазматичної мембрани у цих клітинах [35]. Це було підтверджено імунологічними дослідженнями, які прямо показали, що Ca²⁺-помпи здебільшого розміщені в апікальній і латеральних частинах плазматичної мембрани панкреатитів [108]. У клітинах ацинусів і проток підщелепних залоз Ca²⁺-помпи також були розміщені переважно в люмінальній мембрані [108].

Ізоформа SERCA2a наявна виключно в апікальній частині ацинарних клітин підшлункової залози, а ізоформа SERCA2b – переважно у базальній частині. В ацинарних клітинах підщелепної слинної залози SERCA2b розміщена головним чином апікально і латерально, а SERCA3 – у базальній частині [108]. Передбачається, що депокеровані Ca²⁺-канали, або канали ємнісного входу Ca²⁺, розташовані на базальному полюсі секреторних клітин [103]. Після активації депокерованих Ca²⁺-каналів Ca²⁺ може транспортуватися з базальної частини клітини в апікальну структурами ендоплазматичного ретикулу [122, 144].

Отже, ацинарну клітину підшлункової залози можна поділити на три морфологічно та функціонально різні компартменти: апікальний полюс, обмежений перигранулярними мітохондріями, базальний полюс, заповнений ендоплазматичним ретикуломом і примембранними мітохондріями, та ділянку ядра. Зрозуміло, що інші типи секреторних клітин мають певні морфологічні особливості, проте загальний план будови подібний. Основною відмінністю між ацинарними панкреатитами та клітинами ацинусів підщелепних слинних залоз є те, що останні мають набагато більшу площу контакту з порожниною залози, а тому в них можна виділити лише базальну та люмінальну мембрани [104].

У секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* на підставі аналізу розміщення органел і властивостей Ca²⁺-транспортувальних систем теж постулюється наявність не менше трьох просторово окреслених кальцієвих доменів – базального, апікального та ядерного [20]. Кальцієвий домен, який пов'язаний з функціонуванням базальної (базо-латеральної) частини плазматичної мембрани, – це примембранний простір, відокремлений від іншої частини цитоплазми надзвичайно щільним шаром мітохондрій. Ca²⁺-сигнал у цьому **базальному кальцієвому домені** генерується завдяки узгодженому функціонуванню (рис. 3, 1-5) потенціалкерованих Ca²⁺-каналів, Na⁺-Ca²⁺-обмінника та Ca²⁺-помпи плазматичної мембрани, які формують Ca²⁺-функціональну одиницю плазматичної мембрани, а також Ca²⁺-уніпортера мітохондрій (а також, цілком можливо, Ca²⁺-помпи ендоплазматичного ретикулу й обмінників мітохондрій, оскільки Ca²⁺, що входить через депокеровані Ca²⁺-канали, потрапляє зрештою в ендоплазматичний ретикулум, частково прямо, а частково через мітохондрій). Цілком логічно припустити, що завданням Ca²⁺-сигналу, спричиненого зміною функціональної активності Ca²⁺-транспортувальних систем базального кальцієвого домену (1-5), є регулювання процесів ендоцитозу й енергетичного забезпечення секреторних клітин. **Апікальний кальцієвий домен** – це частина цитоплазми над шаром мітохондрій, за винятком, мабуть, ядра. Доцільність функціонування такого домену виникає із необхідності виокремити процеси екзоцитозу, а також синтетичні процеси на мембранах гранулярного ендоплазматичного ретикулу. Активація кальцієвої відповіді за участю ендоплазматич-

ної Ca^{2+} -функціональної одиниці (6-9) повинна супроводжуватися підвищенням синтезу продуктів секреції та їхнім *екзоцитозом*. Ендоплазматично-мітохондріальна Ca^{2+} -функціональна одиниця виконує важливу роль у регулюванні наповнення внутрішньоклітинних депо катіонами Ca^{2+} , а також забезпечує узгодження інтенсивності екзоцитозу, синтезу і функціонування іонтранспортувальних систем, з одного боку, та окисного фосфорилювання, з іншого.

Значні розміри ядра дають змогу припустити, що у цій частині клітини Ca^{2+} -сигнал має свої особливості, тому слід говорити про наявність ще одного, *третього, ядерного кальцієвого домену*. Процеси, що там відбуваються, ще недостатньо досліджені і будуть розглянуті нижче.

Механізми генерації та роль локальних і глобальних Ca^{2+} -сигналів у функціонуванні секреторних клітин. Найкраще локальні та глобальні Ca^{2+} -сигнали досліджені в ацинарних панкреатитах. Відомо, що початкове підвищення $[\text{Ca}^{2+}]$ під дією ацетил-

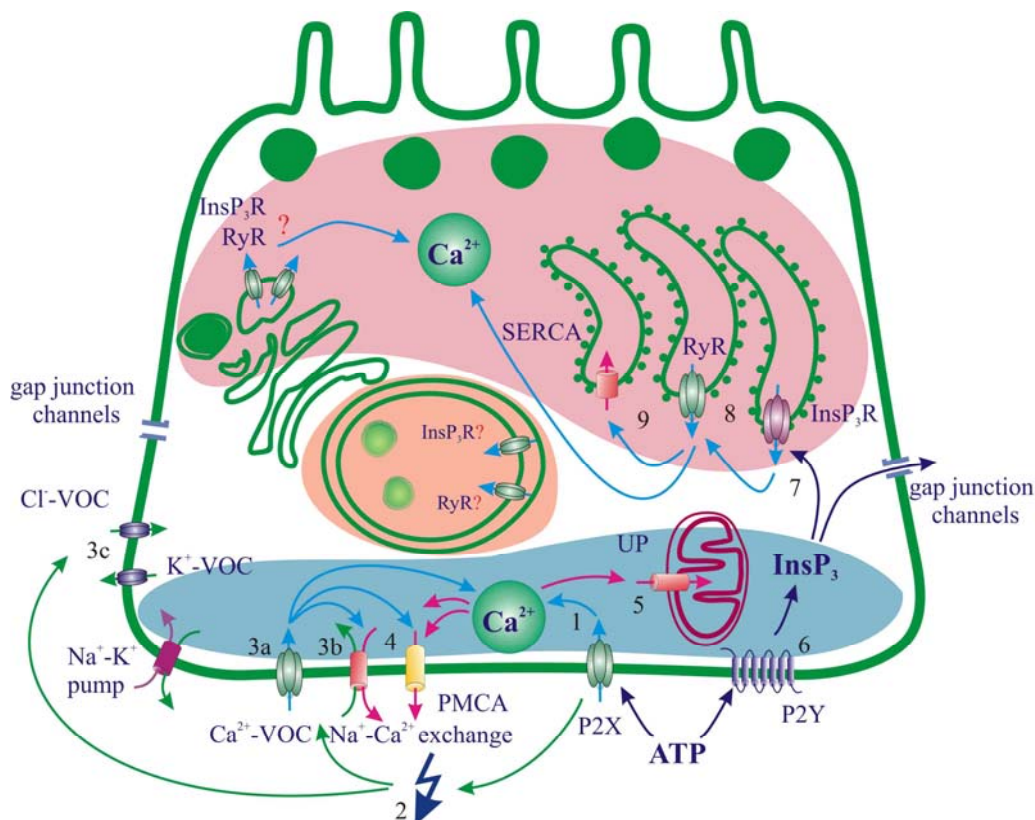


Рис. 3. Гіпотетична схема Ca^{2+} -сигналізації секреторних клітин слинних залоз личинки *Chironomus plumosus*: Ca^{2+} -VOC – потенціалкервані Ca^{2+} -канали; Na^{+} - Ca^{2+} exchange – Na^{+} - Ca^{2+} -обмінник; PMCA – Ca^{2+} -помпа плазматичної мембрани; P2X і P2Y – відповідно P2X- та P2Y-рецептори; SERCA – Ca^{2+} -помпа ендоплазматичного ретикулуму; InsP_3R – $\text{I}\Phi_3$ -чутливі Ca^{2+} -канали; RyR – ріанодинчутливі Ca^{2+} -канали; UP – Ca^{2+} -уніпортер мітохондрій; gap junction channels – високопровідні міжклітинні канали; Na^{+} - K^{+} pump – Na^{+} - K^{+} -помпа; K^{+} -VOC – потенціалкервані K^{+} -канали; Cl^{-} -VOC – потенціалкервані Cl^{-} -канали; InsP_3 – $\text{I}\Phi_3$; ATP – АТФ; цифрові позначення – послідовність процесів за дії екзогенного АТФ [20].

холіну в цих клітинах відбувається у так званій тригерній зоні, розташованій на апікальному полюсі [98]. Є дані, що в тригерній зоні наявні ІФ₃-чутливі Ca²⁺-канали підтипу 3, найбільш чутливі до ІФ₃, і що саме вони відповідають за ініціацію Ca²⁺-хвиль [124]. Після цього відбувається поширення Ca²⁺-хвилі за механізмом Ca²⁺-індукованого вивільнення Ca²⁺. Залежно від типу та концентрації агоніста, що викликає вивільнення Ca²⁺, Ca²⁺-хвилі або поширюються по всій клітині (глобальні сигнали), або обмежені апікальним полюсом (локальні сигнали).

Показано, що саме перигранулярні мітохондрії відіграють роль бар'єра, який обмежує поширення Ca²⁺-хвиль з апікального полюса в базальний (рис. 2) [159]. За фізіологічних концентрацій ацетилхоліну чи ІФ₃ виникають локальні Ca²⁺-хвилі, які не здатні подолати мітохондріального бар'єра. Проте при високих концентраціях цих агоністів або за умов блокування Ca²⁺-уніпортерів мітохондрій виникають глобальні підвищення [Ca²⁺]_i. Однак такі глобальні хвилі не виникають, якщо застосувати ріанодин у концентраціях, що блокують ріанодинчутливі Ca²⁺-канали. Тому за поширення глобальних Ca²⁺-сигналів відповідають ріанодинчутливі Ca²⁺-канали, локалізовані за мітохондріальним бар'єром у базальній частині клітини [159].

Ацетилхолін і холецистокінін є двома найважливішими фізіологічними агоністами, що можуть викликати як глобальні, так і локальні Ca²⁺-сигнали в ацинарних панкреатитах. У високих концентраціях обидва агоністи викликають глобальні сигнали; у низьких (надпорогових) концентраціях ацетилхолін викликає лише локальні повторювані Ca²⁺-спайки, тоді як холецистокінін може викликати і відносно довготривалі глобальні транзєнти [142, 168]. Проте слід зауважити, що глобальне підвищення [Ca²⁺]_i, викликане ацетилхоліном у високих концентраціях чи холецистокініном, може не мати жодного значення для функціонування клітин, оскільки такі концентрації агоністів не є фізіологічними.

Фізіологічне значення локальних Ca²⁺-сигналів, викликаних ацетилхоліном і холецистокініном, зрозуміле: локальне підвищення Ca²⁺ в апікальному полюсі стимулює екзоцитоз. Щодо глобальних Ca²⁺-сигналів, викликаних холецистокініном, то їхня важливість поки що не доведена. Відомо, що вони здатні проникати в ядро [81, 168], а тому, можливо, здійснюють регуляцію експресії генів.

У клітинах ацинусів слинних залоз ситуація виглядає інакше. Особливістю цих клітин є те, що індуковане ацетилхоліном вивільнення Ca²⁺ стимулює секрецію електролітів [147], але не екзоцитоз, який контролюється цАМФ [149]. До недавнього часу вважалося, що там генеруються лише глобальні Ca²⁺-сигнали, необхідні для одночасної активації Ca²⁺-керованих Cl⁻-каналів люмінальної мембрани та Ca²⁺-керованих K⁺-каналів базальної мембрани [125]. Ці сигнали, як і у панкреатитах, виникають на апікальному полюсі та поширюються в напрямку базального [107]. Проте нещодавно було доведено, що локальні Ca²⁺-сигнали можуть виникати у клітинах ацинусів підщелепних слинних залоз [87]. Більше того, доведена їхня фізіологічна важливість, оскільки Ca²⁺-керovanі K⁺-канали базальної мембрани можуть активуватися і при зміні мембранного потенціалу, викликаній активацією Ca²⁺-керованих Cl⁻-каналів люмінальної мембрани [87].

Кальцієва сигналізація у ядрі. Відомо, що Ca²⁺-сигнали поширюються не тільки в цитозолі, а й у ядрі [79]. Вище було зазначено, що у ядерній оболонці наявні системи транспортування Ca²⁺. Тому останнім часом було проведено низку досліджень для виявлення ролі Ca²⁺-сигналів, що виникають у ядрі.

Згідно зі сучасними даними, постійного градієнта концентрацій Ca²⁺ між нуклеоплазмою та цитоплазмою не існує [42]. За умов генерації глобальних Ca²⁺-хвиль відмін-

ності у $[Ca^{2+}]$ між цитоплазмою та нуклеоплазмою також незначні [32]. Тимчасовий градієнт $[Ca^{2+}]$ можливий лише при виникненні локальних Ca^{2+} -хвиль, що не проникають у ядро внаслідок бар'єрної функції навколоядерних мітохондрій [96]. Такі тимчасові градієнти $[Ca^{2+}]$ було виявлено в ацинарних панкреацитах [81].

Доведено, що в ядрі можливий синтез інозитолполіфосфатів [59] та цАДФ-рибози [30]. На основі цього припускають, що ядерні Ca^{2+} -сигнали можуть виникати незалежно від цитоплазматичних. Проте ні наявність, ні фізіологічна важливість таких сигналів у секреторних клітинах остаточно не доведена. Навпаки, існує багато даних про те, що Ca^{2+} -сигнали у ядрі виникають лише після цитоплазматичних: вивільнений в цитоплазмі Ca^{2+} дифундує у нуклеоплазму, запускаючи там подальше вивільнення Ca^{2+} через відповідні канали [42]. В ацинарних панкреацитах коротка і тривала дія ацетилхоліну в низьких концентраціях не приводять до генерації Ca^{2+} -сигналів у ядрі та навколо нього. Правда, високі дози ацетилхоліну чи холецистокініну у фізіологічних концентраціях викликають глобальні Ca^{2+} -сигнали, що поширюються у ядро [81, 168]. Нещодавно виявлено також, що активація потенціалкерованих каналів L-типу в нейронах морського слимака *Aplysia californica* призводить до транслокації АДФ-рибозилциклази з цитоплазми в ядро, що може призводити до генерації Ca^{2+} -сигналів [40]. Тим не менше, поки що невідомо, чи існують специфічні позаклітинні посередники (наприклад, фактори росту), які селективно викликають Ca^{2+} -сигнали у ядрі.

Депокерований вхід кальцію у секреторні клітини. Тривала стимуляція клітин призводить до вичерпання кальцієвого пулу ендоплазматичного ретикулу. Це відбувається тому, що Ca^{2+} , вивільнений з ендоплазматичного ретикулу під час стимуляції, частково виводиться з клітини Ca^{2+} -помпами плазмалеми. Встановлено, що протягом глобальних Ca^{2+} -транзієнтів, викликаних секретогогами, клітина втрачає більше 20% Ca^{2+} , вивільненого з внутрішньоклітинних депо [166]. Якби не було механізму повернення Ca^{2+} у клітину, вона б швидко втратила здатність реагувати на зовнішні стимули. Вхід Ca^{2+} у клітину відбувається через депокеровані Ca^{2+} -канали [139], після чого він відразу поглинається Ca^{2+} -помпами ендоплазматичного ретикулу. Згідно з загальноприйнятою концепцією, ступінь відкриття депокерованих Ca^{2+} -каналів чітко залежить від концентрації вільного Ca^{2+} в ендоплазматичному ретикулумі [150]. Тому тапсигаргін, застосування якого призводить до сильного вичерпання кальцієвого пулу ендоплазматичного ретикулу, повинен повністю активувати депокерований вхід Ca^{2+} . Але прямі вимірювання входу Ca^{2+} електрофізіологічними методами заперечують попереднє твердження [138]. Це пояснюється наявністю Ca^{2+} -залежної, але депонезалежної інактивації депокерованих Ca^{2+} -каналів [136]. У депокерованому вході Ca^{2+} беруть участь гіпотетичні депокеровані Ca^{2+} -канали плазматичної мембрани, ІФ₃-чутливі Ca^{2+} -канали, Ca^{2+} -помпи ендоплазматичного ретикулу, Ca^{2+} -транспортувальні системи мітохондрій і деякі інші білки. Нижче наводимо основні гіпотези депокерованого входу Ca^{2+} .

Експерименти на стратифікованих овоцитах (в яких ендоплазматичний ретикулум може бути концентрованим в одному шарі завдяки центрифугуванню інтактних клітин) показали, що вхід Ca^{2+} в клітини після вичерпання депо відбувається лише при наближенні ендоплазматичного ретикулу до плазмалеми [95]. Це узгоджується з недавніми дослідженнями, які показали важливість STIM1 (stromal interacting molecule 1) у регуляції депокерованого входу Ca^{2+} [112]. Є докази, що STIM1 є сенсором Ca^{2+} , що при вичерпанні Ca^{2+} -пулу ендоплазматичного ретикулу може переміщатися в певні точки ендоплазматичного ретикулу, локалізовані біля плазмалеми, й активувати де-

покеровані Ca²⁺-канали [112, 116]. У клітинах слинних залоз людини та підщелепних залоз миші білки плазмалеми TRPC1 та Orai1, а також STIM1 спільно розміщені (колокалізовані) у районі плазматичної мембрани. Застосування тапсигаргіну збільшує колокалізацію TRPC1, Orai1 та STIM1 у цих клітинах. Показано, що відсутність TRPC1, Orai1 чи STIM1 у клітинах слинних залоз людини призводить до пригнічення, а підвищена експресія TRPC1 – до підсилення депокерованого входу Ca²⁺ [135].

Нещодавно була запропонована цікава модель активації депокерованого входу Ca²⁺ у клітинах лінії HEK293, а також у нативних клітинах підшлункової та слинної залоз за участі білка цитоскелету Homer 1 (H1), IФ₃-чутливих Ca²⁺-каналів та білка TRP3 [101]. Згідно з даними цих дослідників, H1 регулює швидкість переміщення TRP3 з внутрішньоклітинних везикул у плазмалемі і навпаки. У клітинах, що перебувають у стані спокою, TRP3 існує у комплексах TRP3–H1b/c–IФ₃-чутливий Ca²⁺-канал, що розміщені частково у плазматичній мембрані, а частково у везикулах. Зв'язування IФ₃ з IФ₃-чутливим Ca²⁺-каналом призводить до утворення активного комплексу IФ₃-чутливий Ca²⁺-канал–TRPC3–H1b/c та переміщення везикул із TRP3 до плазматичної мембрани. Утворення таких активних комплексів і подальше переміщення TRP3 може також викликати вичерпання депо. Після заповнення депо TRP3 повертається з плазмалеми у внутрішньоклітинні везикули [101]. Можливо, інші білки родини TRP, зокрема TRP6, також утворюють подібні комплекси [101].

Показано, що в ацинарних панкреатитах депокерований вхід Ca²⁺ супроводжується поглинанням Ca²⁺ примембранними мітохондріями [140], що приводить до підвищення концентрації НАДФ у мітохондріях [173]. Тому депокерований вхід Ca²⁺ інтенсифікує локальний синтез АТФ, який використовується Ca²⁺-помпами ендоплазматичного ретикулуму при транспортуванні Ca²⁺, що надходить у клітину через депокеровані Ca²⁺-канали. Поглинання Ca²⁺ примембранними мітохондріями може також сприяти утриманню депокерованих Ca²⁺-каналів у відкритому стані [82]. Можливо, це пов'язано зі швидким усуненням мітохондріями високих концентрацій Ca²⁺, які інактивують депокеровані Ca²⁺-канали [137].

Таким чином, на основі відомих на сьогодні фактів можна запропонувати наступну модель функціонування та регуляції депокерованого входу Ca²⁺ у секреторні клітини. У стані спокою відбувається незначний витік Ca²⁺ з ендоплазматичного ретикулуму [123] та його транспортування з клітини Ca²⁺-помпами плазмалеми [165]. Ці процеси зрівноважені з рівнозначним входом Ca²⁺ через депокеровані Ca²⁺-канали з подальшим його поглинанням Ca²⁺-помпами ендоплазматичного ретикулуму та примембранними мітохондріями. За цих умов робота Ca²⁺-помп пригнічується високою концентрацією Ca²⁺ в ендоплазматичному ретикулумі [123], а STIM1 перебуває далеко від плазмалеми. При стимуляції агоністом відбувається утворення IФ₃, який активує IФ₃-чутливі Ca²⁺-канали, що, в свою чергу, призводить до вивільнення Ca²⁺ з ендоплазматичного ретикулуму та переміщення TRP3 у плазмалемі. Зниження [Ca²⁺] в ендоплазматичному ретикулумі має два наслідки. По-перше, STIM1 транспортується до місць контакту ендоплазматичного ретикулуму з плазмалею [135] й активує там попередньо наявні чи щойно сформовані завдяки транслокації TRPC3 депокеровані Ca²⁺-канали. По-друге, відбувається активація Ca²⁺-помп ендоплазматичного ретикулуму [123]. Ca²⁺, який транспортується в клітину через депокеровані Ca²⁺-канали, швидко поглинається розташованими неподалік примембранними мітохондріями [140] та Ca²⁺-помпами ендоплазматичного ретикулуму, через що не відбувається глобального підвищення [Ca²⁺]_i [123], хоча це не

виключає суттєвих локальних флуктуацій $[Ca^{2+}]$ у проміжку між ендоплазматичним ретикуломом і плазмалею [71]. Мітохондрії, поглинувши Ca^{2+} , інтенсифікують синтез АТФ, який використовується для роботи Ca^{2+} -помп ендоплазматичного ретикулу. Оскільки кальцієва ємність мітохондрій обмежена, поглинутий ними Ca^{2+} може згодом виходити з них і транспортуватися в ендоплазматичний ретикулум. $[Ca^{2+}]$ в ендоплазматичному ретикулумі поступово зростає, що зменшує швидкість поглинання Ca^{2+} помпами [123] і, в свою чергу, призводить до підвищення $[Ca^{2+}]$ біля депокерованих Ca^{2+} -каналів та їх інактивації [136]. Врешті, настає момент, коли пул Ca^{2+} ендоплазматичного ретикулу повністю відновлений. Тоді Ca^{2+} -помпа ендоплазматичного ретикулу максимально інгібується і одночасно інактивуються депокеровані Ca^{2+} -канали завдяки припиненню активуючої дії STIM1 та локальному підвищенню $[Ca^{2+}]$. Заповнення депо також призводить до переміщення TRP3 з плазмалею у внутрішньоклітинні везикули [101]. Зрозуміло, що різні типи секреторних клітин мають свої особливості, тому можливо, що описані механізми регуляції депокерованого входу Ca^{2+} функціонують лише у частині з них.

Підсумок. Таким чином, система передачі сигналів у секреторних клітинах за участі Ca^{2+} є надзвичайно складно організованою. На сьогодні для секреторних клітин ссавців можна виділити певні особливості проходження цих процесів. По-перше, всі мембранні органіди здатні депонувати Ca^{2+} , причому мітохондрії функціонують як бар'єри для поширення Ca^{2+} -хвиль, розділяючи секреторну клітину на 2-3 функціонально різних компартменти. По-друге, Ca^{2+} -сигналізація ґрунтується на генерації локальних і глобальних Ca^{2+} -хвиль в основному за участі Ca^{2+} -каналів депо (ІФ₃-чутливих і ріанодинчутливих), а не плазматичної мембрани (потенціалокерованих чи рецепторкерованих). Ці сигнали виникають в апікальному полюсі клітини і поширюються завдяки Ca^{2+} -індукованому вивільненню Ca^{2+} . І, по-третє, вхід Ca^{2+} у секреторні клітини відбувається здебільшого через депокеровані Ca^{2+} -канали без значного підвищення $[Ca^{2+}]$.

Проте екстраполювати всі ці закономірності на секреторні клітини інших груп тварин, зокрема безхребетних, повною мірою поки що не варто, особливо зважаючи на недавні дослідження, проведені на цих клітинах.

Незважаючи на значні досягнення науки у дослідженнях кальцієвої сигналізації секреторних клітин, надалі залишаються не до кінця зрозумілими такі ключові її аспекти, як депокерований вхід Ca^{2+} , роль глобальних Ca^{2+} -сигналів і Ca^{2+} -сигналів у ядрі. Невідомими також є механізми взаємодії та розділення різних Ca^{2+} -сигналів у одній клітині за впливу різних агоністів (наприклад – ацетилхоліну та холецистокініну в ацинарних панкреацитах).

1. Бичкова С. В., Манько В. В. Ріанодиніндуковане вивільнення Ca^{2+} у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* L. // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 35. С. 244–250.
2. Бичкова С., Манько В., Клевець М., Кулачковський О. Роль мітохондрій у Ca^{2+} -сигналізації секреторних клітин травних залоз // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2007. Вип. 44. С. 3–14.
3. Вац Ю. А. Властивості Ca^{2+} -помпи мембран ацинарних секреторних клітин підщелепної слинної залози щурів: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. Львів, 2004. 20 с.
4. Великопольська О. Ю., Манько Б. О., Манько В. В., Клевець М. Ю. Зміни вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} за одночасної дії АТФ і ріанодину // IV Міжнародна наукова

- конференція «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології», присвячена 90-річчю від дня народження П. Г. Богача, м. Київ, 8-10 жовтня 2008 р.: Тези доп. Київ, 2008. С. 52–53.
5. *Великопольська О., Мерлавський В., Манько В.* Зміни вмісту мембранозв'язаного Ca²⁺ у тканині слинних залоз за дії аденілових нуклеотидів та сураміну // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 47. С. 146–152.
 6. *Гриньків М. Я., Клевець М. Ю., Шостаковская И. В.* Роль кальція в екструзії пшечварительных ферментов ацинарными клетками поджелудочной железы // Физиол. журн. 1988. Т. 34. № 4. С. 13–17.
 7. *Дубицький Л. О.* Енергозалежні Ca²⁺-транспортувальні системи секреторних клітин екзокринних залоз та механізми взаємодії їх з катіонами металів: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. К., 2006. 39 с.
 8. *Дубицький Л. О., Сабадаш Г. І.* Вплив гіпонатрієвих середовищ на екструзію пепсиногена диспергованими залозами шлунка // Физиол. журн. 1995. Т. 41. № 3–4. С. 45–48.
 9. *Клевець М. Ю.* Електричні властивості секреторних клітин травних залоз і механізми екструзії їх ферментів: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. К., 1993. 40 с.
 10. *Клевець М. Ю., Гураль З. В.* Идентификация активируемого деполяризацией кальциевого тока мембраны секреторных клеток // Физиол. журн. 1990. Т. 36. № 2. С. 102–104.
 11. *Клевець М. Ю., Манько В. В.* Характеристика потенціалозалежного кальцієвого струму мембрани секреторних клітин // Физиол. журн. 1992. Т. 38. № 3. С. 70–75.
 12. *Клевець М. Ю., Манько В. В.* Вивчення натрієвого градієнта для реєстрації струму через кальцієві потенціалозалежні канали мембрани секреторних клітин // XIV з'їзд укр. фізіол. тов-ва: Тези доповідей. К., 1994. С. 10–11.
 13. *Клевець М. Ю., Манько В. В., Федірко В. В.* Дослідження струму Na–Ca-обміну мембрани секреторних клітин // Доп. НАН України. 1995. № 11. С. 123–126.
 14. *Копач О. В.* Роль ендоплазматичного ретикулуму у регуляції внутрішньоклітинної Ca²⁺-сигналізації та функціонування ацинарних клітин підщелепної слинної залози: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. Львів, 2005. 20 с.
 15. *Король Т., Манько В., Клевець М.* Вплив блокаторів потенціалозалежних кальцієвих каналів на стимульований гіперкалієвою деполяризацією вхід Ca²⁺ у клітини екзокринних залоз та їх секреторну відповідь // Галицький лікар. вісн. 1998. Т. 5. № 3. С. 46–48.
 16. *Король Т. В., Манько В. В., Клевець М. Ю.* Дослідження активного транспорту Ca²⁺ у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* L. // Біологія тварин. 2000. Т. 2. № 1. С. 92–97.
 17. *Манько В. В.* Характеристика струмів потенціалозалежних кальцієвих каналів мембрани секреторних клітин: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 1995. 21 с.
 18. *Манько В. В.* Методологічні підходи до дослідження Na⁺–Ca²⁺-обміну в екзокринних секреторних клітинах // Укр. біохім. журн. 2006. Т. 78. № 1. С. 43–62.
 19. *Манько В. В.* Концепція Ca²⁺-функціональних одиниць у застосуванні до секреторних клітин слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* // Біологічні Студії / Studia Biologica. 2008. Т. 2. № 1. С. 33–50.
 20. *Манько В. В.* Системи трансмембранного транспортування кальцію у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* Linnaeus: Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. К., 2008. 43 с.
 21. *Манько В. В., Великопольська О. Ю.* Идентификация пуриновых рецепторов у секреторных клітинах слинних залоз комара-дергуна // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2005. Вип. 40. С. 134–139.

22. Манько В. В., Бичкова С. В., Клевець М. Ю. Ідентифікація каналів вивільнення Ca^{2+} у секреторних клітинах слинних залоз личинки комара-дергуна // Укр. біохім. журн. 2004. Т. 76. № 1. С. 65–71.
23. Манько В., Ларіна О., Клевець М. Залежність струму Na^+ - Ca^{2+} -обміну плазматичної мембрани екзокринних секреторних клітин від функціонування Na^+ - K^+ -помпи // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2001. Вип. 27. С. 218–224.
24. Манько В. В., Клевець М. Ю., Ларіна О. А. Зависимость амплитуды тока Na^+ - Ca^{2+} -обмена мембраны секреторных клеток от функциональной активности Ca^{2+} -насоса в условиях внутриклеточной перфузии // II съезд биофизиков России, 23–27 августа 1999 г., Москва: Тезисы докл. Т. 2. М., 1999. С. 537–538.
25. Манько В. В., Стельмах С. В. Вплив рутенію червоного на вміст Ca^{2+} у тканині слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 29. С. 171–176.
26. Наливайко Н. В. Властивості і функціональна роль Na^+ -залежного і Na^+ -незалежного виходу Ca^{2+} з мітохондрій печінки і міокарда: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. Львів, 2007. 20 с.
27. Федірко Н. В., Вац Ю. О., Клевець М. Ю. Ідентифікація Ca^{2+} -активованої, Mg^{2+} -залежної АТФази мікросомальної фракції мембран секреторних клітин ізольованих ацинусів підщелепної слинної залози щурів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2002. Вип. 28. С. 303–310.
28. Чорна Т. І., Манько В. В., Клевець М. Ю. Потенціалокеровані Ca^{2+} -канали у плазматичній мембрані секреторних клітин слинних залоз личинки *Drosophila melanogaster* // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2007. № 2 (37). С. 29–34.
29. Aarhus R., Graeff R. M., Dickey D. M. et al. ADP-ribosyl cyclase and CD38 catalyze the synthesis of a calcium-mobilizing metabolite from NADP^+ // J. Biol. Chem. 1995. Vol. 270. P. 30327–30333.
30. Adebajo O. A., Anandatheerthavarada H. K., Koval A. P. et al. A new function for CD38/ADP-ribosyl cyclase in nuclear Ca^{2+} homeostasis // Nat. Cell Biol. 1999. Vol. 1. P. 409–414.
31. Allbritton N. L., Meyer T., Stryer L. Range of messenger action of calcium ion and inositol-1,4,5-triphosphate // Science. 1992. Vol. 258. P. 1812–1815.
32. Al-Mohanna F. A., Caddy K. W. T., Bolsover S. R. The nucleus is insulated from large cytosolic calcium ion changes // Nature. 1994. Vol. 367. P. 745–750.
33. Ambudkar I. S. Regulation of calcium in salivary gland secretion // Crit. Rev. Oral. Biol. Med. 2000. Vol. 11. N 1. P. 4–25.
34. Bayerdorffer E., Haase W., Schulz I. Na^+ / Ca^{2+} countertransport in plasma membrane of rat pancreatic acinar cells // J. Membr. Biol. 1985. Vol. 87. N 2. P. 107–119.
35. Belan P. V., Gerasimenko O. V., Tepikin A. V. et al. Localization of Ca^{2+} extrusion sites in pancreatic acinar cells // J. Biol. Chem. 1996. Vol. 271. P. 7615–7619.
36. Berg I., Potter B. V., Mayr G. W. et al. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP^+) is an essential regulator of T-lymphocyte Ca^{2+} -signaling // J. Cell Biol. 2000. Vol. 150. P. 581–588.
37. Bernstein J., Santacana G. The Na^+ / Ca^{2+} exchange system of the liver cell // Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. – 1985. – Vol. 47, № 2. – P. 3–34.
38. Berridge M. J. Inositol triphosphate and calcium signalling // Nature. 1993. Vol. 361. P. 315–325.

39. *Berridge J. M., Bootman M. D., Lipp P.* Calcium – a life and death signal // *Nature*. 1998. Vol. 395. P. 645–648.
40. *Bezin S., Charpentier G., Lee H. Ch. et al.* Regulation of nuclear Ca²⁺ signaling by translocation of the Ca²⁺ messenger synthesizing enzyme ADP-ribosyl cyclase during neuronal depolarization // *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. Is. 41. P. 27859–27870.
41. *Bootman M. D., Lipp P., Berridge M. J.* The organisation and functions of local Ca²⁺ signals // *J. Cell Sci.* 2001. Vol. 114. P. 2213–2222.
42. *Bootman M. D., Thomas D., Tovey S. C. et al.* Nuclear calcium signalling // *Cell. Mol. Life Sci.* 2000. Vol. 57. P. 371–378.
43. *Brandt P., Ibrahim E., Bruns G. A., Neve R. L.* Determination of the nucleotide sequence and chromosomal localization of the ATP2B2 gene encoding human Ca²⁺-pumping ATPase isoform PMCA2 // *Genomics*. 1992. Vol. 14. P. 484–487.
44. *Buck E., Zimanyi I., Abramson J. J. et al.* Ryanodine stabilizes multiple conformational states of the skeletal muscle calcium release channel // *J. Biol. Chem.* 1992. Vol. 267. P. 23560–23567.
45. *Buell G., Lewis C., Collo G. et al.* An antagonist-insensitive P2X receptor expressed in epithelia and brain // *EMBO J.* 1996. Vol. 15. P. 55–62.
46. *Bull R., Marengo J. J.* Sarcoplasmic reticulum release channels from frog skeletal muscle display two types of calcium dependence // *FEBS Lett.* 1993. Vol. 331. P. 223–227.
47. *Bull R., Marengo J., Suarez-Isla B. et al.* Activation of calcium channels in sarcoplasmic reticulum from frog muscle by nanomolar concentrations of ryanodine // *Biophys. J.* 1989. Vol. 56. P. 749–756.
48. *Burdakov D., Galione A.* Two neuropeptides recruit different messenger pathways to evoke Ca²⁺ signals in the same cell // *Curr. Biol.* 2000. Vol. 10. P. 993–996.
49. *Burgoyne R. D., Morgan A.* Secretory granule exocytosis // *J. Physiol. Rev.* 2002. Vol. 83. P. 581–632.
50. *Cancela J. M.* Specific Ca²⁺ signaling evoked by cholecystokinin and acetylcholine: the roles of NAADP, cADPR, and IP₃ // *Annu. Rev. Physiol.* 2001. Vol. 63. P. 99–117.
51. *Cancela J. M., Churchill G. C., Galione A.* Coordination of agonist-induced Ca²⁺-signalling patterns by NAADP in pancreatic acinar cells // *Nature*. 1999. Vol. 398. P. 74–76.
52. *Cancela J. M., Gerasimenko O. V., Gerasimenko J. V. et al.* Two different but converging messenger pathways to intracellular Ca²⁺ release: The roles of nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate, cyclic ADP-ribose and inositol trisphosphate // *EMBO J.* 2000. Vol. 19. P. 2549–2557.
53. *Cannell M. B., Soeller C.* Sparks of interest in cardiac excitation-contraction coupling // *Trends Pharmacol. Sci.* 1998. Vol. 19. P. 16–20.
54. *Carafoli E., Santella L., Branca D. et al.* Generation, control, and processing of cellular calcium signals // *Crit. Rev. Biochem. and Mol. Biol.* 2001. Vol. 36. P. 107–260.
55. *Carafoli E., Tiozzo R., Lugli G. et al.* The release of calcium from heart mitochondria by sodium // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1974. Vol. 6. P. 361–371.
56. *Caroni P., Reinlib L., Carafoli E.* Charge movements during the Na⁺-Ca²⁺ exchange in heart sarcolemmal vesicles // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1980. Vol. 77. N 11. P. 6354–6358.
57. *Caulfield M. P., Birdsall N. J. M.* International union of pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors // *Pharmacol. Rev.* 1998. Vol. 50. Is. 2. P. 279–290.
58. *Clapper D. L., Walseth T. F., Dargie P. J. et al.* Pyridine nucleotide metabolites stimulate calcium release from sea urchin egg microsomes desensitized to inositol trisphosphate // *J. Biol. Chem.* 1987. Vol. 262. P. 9561–9568.

59. *Cocco L., Martelli A. M., Gilmour R. S.* Inositol lipid signalling in the nucleus // *Cell. Signal.* 1994. Vol. 6. P. 481–485.
60. *Copello J. A., Qi Y., Jeyakumar L. H.* et al. Lack of effect of cADP-ribose and NAADP on the activity of skeletal muscle and heart ryanodine receptors // *Cell Calcium.* 2001. Vol. 30. P. 269–284.
61. *Di Julio D. H., Watson E. L., Pessah I. N.* et al. Ryanodine receptor type III (RyR₃) identification in mouse parotid acini. Properties and modulation of [³H]ryanodine-binding sites // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. N 25. P. 15687–15696.
62. *Dolman N. J., Gerasimenko J. V., Gerasimenko O. V.* et al. Stable golgi-mitochondria complexes and formation of golgi Ca²⁺ gradients in pancreatic acinar cells // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. N 16. P. 15794–15799.
63. *Finch E. A., Turner T. J., Goldin S. M.* Calcium as a coagonist of inositol 1,4,5-trisphosphate-induced calcium release // *Science.* 1991. Vol. 252. P. 443–446.
64. *Fiskum G., Lehninger A. L.* Regulated release of Ca²⁺ from respiring mitochondria by Ca²⁺/2H⁺ antiport // *J. Biol. Chem.* 1979. Vol. 254. P. 6236–6239.
65. *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. Vol. 351. (Pt 1). P. 265–271.
66. *Fleischer S., Ogunbunmi E. M., Dixon M. C.* et al. Localization of Ca²⁺ release channels with ryanodine in junctional terminal cisternae of sarcoplasmic reticulum of fast skeletal muscle // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1985. Vol. 82. N 21. P. 7256–7259.
67. *Flood P., Role L. W.* Neuronal nicotinic acetylcholine receptor modulation by general anesthetics // *Toxicol. Lett.* 1998. Vol. 100–101. P. 149–153.
68. *Furuichi T., Michikawa T., Mikoshiba K.* Intracellular calcium channels // *Calcium as a cellular regulator* / Eds. by E. Carafoli and C. Klee. NY: Oxford University Press, 1999. P. 200–248.
69. *Galione A., Petersen O. H.* The NAADP Receptor: New Receptors or New Regulation? // *Molecular interventions.* 2005. Vol. 5. P. 73–79.
70. *Gallacher D. V., Morris A. P.* The receptor-regulated calcium influx in mouse submandibular acinar cells is sodium dependent: a patch-clamp study // *J. Physiol.* 1987. Vol. 384. P. 119–130.
71. *Gardiner D. M., Grey R. D.* Membrane junctions in xenopus eggs: their distribution suggests a role in calcium regulation // *J. Cell Biol.* 1983. Vol. 96. P. 1159–1163.
72. *Gensburger C., Freyermuth S., Klein C.* et al. In vivo nuclear Ca²⁺-ATPase phosphorylation triggers intermediate size molecular transport to the nucleus // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. Vol. 303. P. 1225–1228.
73. *Gerasimenko J. V., Gerasimenko O. V., Palejwala A.* et al. Menadione-induced apoptosis: roles of cytosolic Ca²⁺ elevations and the mitochondrial permeability transition pore // *J. Cell Sci.* 2002. Vol. 115. P. 485–497.
74. *Gerasimenko J. V., Maruyama Y., Yano K.* et al. NAADP mobilizes Ca²⁺ from a thapsigargin-sensitive store in the nuclear envelope by activating ryanodine receptors // *J. Cell Biol.* 2003. Vol. 163. P. 271–282.
75. *Gerasimenko J. V., Tepikin A. V., Petersen O. H.* et al. Calcium uptake via endocytosis with rapid release from acidifying endosomes // *Curr. Biol.* 1998. Vol. 8. P. 1335–1338.
76. *Gerasimenko O. V., Gerasimenko J. V.* New aspects of nuclear calcium signalling // *J. Cell Sci.* 2004. Vol. 117. P. 3087–3094.

77. *Gerasimenko O. V., Gerasimenko J. V., Belan P. V.* et al. Inositol trisphosphate and cyclic ADP-ribose-mediated release of Ca²⁺ from single isolated pancreatic zymogen granules // *Cell*. 1996. Vol. 84. P. 473–480.
78. *Gerasimenko O. V., Gerasimenko J. V., Rizzuto R. R.* et al. The distribution of the endoplasmic reticulum in living pancreatic acinar cells // *Cell Calcium*. 2002. Vol. 32. N 5–6. P. 261–268.
79. *Gerasimenko O. V., Gerasimenko J. V., Tepikin A. V.* et al. ATP dependent accumulation and inositol trisphosphate- or cyclic ADP-ribose-mediated release of Ca²⁺ from the nuclear envelope // *Cell*. 1995. Vol. 80. P. 439–444.
80. *Gerasimenko O. V., Gerasimenko J. V., Tepikin A. V.* et al. Calcium transport pathways in the nucleus // *Pflugers Arch*. 1996. Vol. 432. P. 1–6.
81. *Gerasimenko O. V., Gerasimenko J. V., Tepikin A. V.* et al. Short pulses of acetylcholine stimulation induce cytosolic Ca²⁺ signals that are excluded from the nuclear region in pancreatic acinar cells // *Pflugers Arch*. 1996. Vol. 432. P. 1055–1061.
82. *Glitsch M. D., Bakowski D., Parekh A. B.* Store-operated Ca²⁺ entry depends on mitochondrial Ca²⁺ uptake // *EMBO J*. 2002. Vol. 21. P. 6744–6754.
83. *Grover A. K., Khan I.* Calcium pump isoforms: diversity, selectivity and plasticity // *Cell Calcium*. 1992. Vol. 13. P. 9–17.
84. *Guerini D., García-Martin E., Gerber A.* et al. The expression of plasma membrane Ca²⁺ pump isoforms in cerebellar granule neurons is modulated by Ca²⁺ // *J. Biol. Chem*. 1999. Vol. 274. Is. 3. P. 1667–1676.
85. *Gunter T. E., Pfeiffer D. R.* Mechanisms by which mitochondria transport calcium // *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 1990. Vol. 258. P. C755–C786.
86. *Hansford R. G.* Physiological role of mitochondrial Ca²⁺ transport // *J. Bioenerg. Biomembr*. 1994. Vol. 26. P. 495–508.
87. *Harmer A. R., Smith P. M., Gallacher D. V.* Local and global calcium signals and fluid and electrolyte secretion in mouse submandibular acinar cells // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol*. 2005. Vol. 288. P. G118–G124.
88. *Hede S. E., Amstrup J., Christoffersen B. C.* et al. Purinoceptors evoke different electrophysiological responses in pancreatic ducts // *J. Biol. Chem*. 1999. Vol. 274. P. 31784–31791.
89. *Hilgemann D. W., Collins A., Cash D. P.* et al. Cardiac Na⁺-Ca²⁺ exchange system in giant membrane patches // *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 1991. Vol. 639. P. 126–139.
90. *Hill S. J.* Distribution, properties and functional characteristics of three classes of histamine receptor // *Pharmacol. Rev*. 1990. Vol. 42. P. 45–83.
91. *Hohenegger M., Suko J., Gscheidlinger R.* et al. Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate, NAADP, activates the skeletal muscle ryanodine receptor // *Biochem. J*. 2002. Vol. 367. P. 423–431.
92. *Howard M., Grimaldi J. C., Bazan J. F.* et al. Formation and hydrolysis of cyclic ADP-ribose catalyzed by lymphocyte antigen CD38 // *Science*. 1993. Vol. 262. P. 1056–1059.
93. *Humbert J. P., Matter N., Artault J.* et al. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor is located to the inner nuclear membrane vindicating regulation of nuclear calcium signalling by inositol 1,4,5-trisphosphate // *J. Biol. Chem*. 1996. Vol. 271. P. 478–485.
94. *Jackson D. G., Bell J. I.* Isolation of a cDNA encoding the human CD38 (T10) molecule, a cell surface glycoprotein with an unusual discontinuous pattern of expression during lymphocyte differentiation // *J. Immunol*. 1990. Vol. 144. P. 2811–2815.

95. *Jaconi M., Pyle J., Bortolon R.* et al. Calcium release and influx colocalize to the endoplasmic reticulum // *Curr. Biol.* 1997. Vol. 7. P. 599–602.
96. *Johnson P. R., Dolman N. J., Pope M.* et al. Non-uniform distribution of mitochondria in pancreatic acinar cells // *Cell Tissue Res.* 2003. Vol. 313. N 1. P. 37–45.
97. *Kappl M., Hartung K.* Rapid charge translocation by the cardiac $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ exchanger after a Ca^{2+} concentration jump // *Biophys. J.* 1996. Vol. 71. P. 2473–2485.
98. *Kasai H., Li YX, Miyashita Y.* Subcellular distribution of Ca^{2+} release channels underlying Ca^{2+} waves and oscillations in exocrine pancreas // *Cell.* 1993. Vol. 74. P. 669–677.
99. *Khananashvili D.* Distinction between the two basic mechanisms of cation transport in the cardiac $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ exchange system // *Biochem.* 1990. Vol. 29. P. 2437–2442.
100. *Kidd J. F., Fogarty K. E., Tuft R. A.* et al. The role of Ca^{2+} feedback in shaping InsP_3 -evoked Ca^{2+} signals in mouse pancreatic acinar cells // *J. Physiol.* 1999. Vol. 520. P. 187–201.
101. *Kim J. Y., Zeng W., Kiselyov K.* et al. Homer 1 Mediates Store- and Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor-dependent Translocation and Retrieval of TRPC3 to the Plasma Membrane // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. N 43. P. 32540–32549.
102. *Kirichok Y., Krapivinsky G., Clapham D. E.* The mitochondrial calcium uniporter is a highly selective ion channel // *Nature.* 2004. Vol. 427 (6972). P. 360–364.
103. *Knot H. J., Laher I., Sobie E. A.* et al. Twenty years of calcium imaging: cell physiology to dye for // *Molecular Interventions.* 2005. Vol. 5. P. 112–127.
104. *Larina O., Thorn P.* Ca^{2+} dynamics in salivary acinar cells: distinct morphology of the acinar lumen underlies nearsynchronous global Ca^{2+} responses // *J. Cell Science.* 2005. Vol. 118. P. 4131–4139.
105. *Lee H. C.* Potentiation of calcium- and caffeine-induced calcium release by cyclic ADP-ribose // *J. Biol. Chem.* 1993. Vol. 268. P. 293–299.
106. *Lee H. C., Aarhus R. A.* Derivative of NADP mobilizes calcium stores insensitive to inositol trisphosphate and cyclic ADP-ribose // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270. P. 2152–2157.
107. *Lee M. G., Xu X., Zeng W.* et al. Polarized expression of Ca^{2+} channels in pancreatic and salivary gland cells. Correlation with initiation and propagation of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ waves // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. N 25. P. 15765–15770.
108. *Lee M. G., Xu X., Zeng W.* et al. Polarized expression of Ca^{2+} pumps in pancreatic and salivary gland cells. Role in initiation and propagation of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ waves // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. N 25. P. 15771–15776.
109. *Leite M. F., Dranoff J. A., Gao L.* et al. Expression and subcellular localization of the ryanodine receptor in rat pancreatic acinar cells // *Biochem. J.* 1999. Vol. 337. P. 305–309.
110. *Leurs R., Smit M. J., Timmerman H.* Molecular pharmacological aspects of histamine receptors // *Pharmacol. Ther.* 1995. Vol. 66. P. 413–463.
111. *Lindsay A. R., Williams A. J.* Functional characterization of the ryanodine receptor purified from sheep cardiac muscle sarcoplasmic reticulum // *Biochim. Biophys. Acta.* 1991. Vol. 1064. P. 89–102.
112. *Liou J., Kim M. L., Heo W. D.* et al. STIM is a Ca^{2+} sensor essential for Ca^{2+} -store-depletion triggered Ca^{2+} influx // *Curr. Biol.* 2005. Vol. 15. P. 1235–1241.
113. *Liu X., Ambudkar I. S.* Characteristics of a store-operated calcium-permeable channel. Sarcoplasmic reticulum calcium pump function controls channel gating // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. Is. 32. P. 29891–29898.
114. *Liu Q. Y., Lai F. A., Rousseau E.* et al. Multiple conductance states of the purified calcium release channel complex from skeletal sarcoplasmic reticulum // *Biophys. J.* 1989. Vol. 55. P. 415–424.

115. Liu X., O'Connell A., Ambudkar I. S. Ca²⁺-dependent inactivation of a store-operated Ca²⁺ current in human submandibular gland cells. Role of a staurosporine-sensitive protein kinase and the intracellular Ca²⁺ pump // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273. Is. 50. P. 33295–3304.
116. Luik R. M., Wu M. M., Buchanan J. et al. The elementary unit of store-operated Ca²⁺ entry: local activation of CRAC channels by STIM1 at ER–plasma membrane junctions // Cell Biol. 2006. Vol. 174. P. 815–825.
117. Maeda N., Kawasaki T., Nakade S. et al. Structural and functional characterization of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor channel from mouse cerebellum // J. Biol. Chem. 1991. Vol. 266. P. 1109–1116.
118. Marshall I. C., Taylor C. W. Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors // J. Exp. Biol. 1993. Vol. 184. Is. 1. P. 161–182.
119. Marzo I., Brenner C., Zamzami N. et al. The permeability transition pore complex: a target for apoptosis regulation by caspases and bcl-2-related proteins // J. Exp. Med. 1998. Vol. 187. N 8. P. 1261–1271.
120. Mignery G. A., Johnston P. A., Südhof T. C. Mechanism of Ca²⁺ inhibition of inositol 1,4,5-trisphosphate (InsP₃) binding to the cerebellar InsP₃ receptor // J. Biol. Chem. 1992. Vol. 267. P. 7450–7455.
121. Missiaen L., van Acker, K., van Baelen K. et al. Calcium release from the Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum in HeLa cells stably expressing targeted aequorin to these compartments // Cell Calcium. 2004. Vol. 36. P. 479–487.
122. Mogami H., Nakano K., Tepikin A. V. et al. Ca²⁺ flow via tunnels in polarized cells: recharging of apical Ca²⁺ stores by focal Ca²⁺ entry through basal membrane patch // Cell. 1997. Vol. 88. P. 49–55.
123. Mogami H., Tepikin A. V., Petersen O. H. Termination of cytosolic Ca²⁺ signals: Ca²⁺ reuptake into intracellular stores is regulated by the free Ca²⁺ concentration in the store lumen // EMBO J. 1998. Vol. 17. P. 435–442.
124. Nathanson M. H., Fallon M. B., Padfield P. J. et al. Localization of the type 3 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in the Ca²⁺ wave trigger zone of pancreatic acinar cells // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. Is. 7. P. 4693–4696.
125. Nauntofte B. Regulation of electrolyte and fluid secretion in salivary acinar cells // Am. J. Physiol. 1992. Vol. 263. P. G823–G837.
126. Nicoll D. A., Longoni S., Philipson K. D. Molecular cloning and functional expression of the cardiac sarcolemmal Na⁺-Ca²⁺ exchanger // Science. 1990. Vol. 250. Is. 4980. P. 562–565.
127. Nicoll D. A., Ottolia M., Lu L. et al. A new topological model of the cardiac sarcolemmal Na⁺-Ca²⁺ exchanger // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. Is. 2. P. 910–917.
128. Niggli V., Adunyah E. S., Penniston J. T. et al. Purified Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase of the erythrocyte membrane. Reconstitution and effect of calmodulin and phospholipids // J. Biol. Chem. 1981. Vol. 256. Is. 1. P. 395–401.
129. Niggli V., Penniston J. T., Carafoli E. Purification of the Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase from human erythrocyte membranes using a calmodulin affinity column // J. Biol. Chem. 1979. Vol. 254. Issue 20. P. 9955–9958.
130. Nilius B., Droogmans G. Ion Channels and Their Functional Role in Vascular Endothelium // Physiol. Rev. 2001. Vol. 81. P. 1415–1459.
131. Nishizuka Y. The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation // Nature. 1988. Vol. 334 (6184). P. 661–665.

132. *North R. A.* Molecular physiology of P2X receptors // *Physiol. Rev.* 2002. Vol. 82. N 4. P. 1013–1067.
133. *Novak I., Nitschke R., Amstrup J.* Purinergic receptors have different effects in rat exocrine pancreas. calcium signals monitored by fura-2 using confocal microscopy // *Cell. Physiol. Biochem.* 2002. Vol. 12. N 2–3. P. 83–92.
134. *Olson S., Wang M. G., Carafoli E.* et al. Localization of two genes encoding plasma membrane Ca^{2+} -transporting ATPases to human chromosomes 1q25-32 and 12q21-23 // *Genomics.* 1991. Vol. 9. N 4. P. 629–641.
135. *Ong H. L., Cheng K. T., Liu X.* et al. Dynamic Assembly of TRPC1-STIM1-Orai1 ternary complex is involved in store-operated calcium influx: evidence for similarities in store-operated and calcium release-activated calcium channel components // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 9105–9116.
136. *Parekh A. B.* Slow feedback inhibition of calcium release activated calcium current by calcium entry // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 14925–14932.
137. *Parekh A. B.* Store-operated Ca^{2+} entry: dynamic interplay between endoplasmic reticulum, mitochondria and plasma membrane // *J. Physiol.* 2003. Vol. 547. P. 333–348.
138. *Parekh A. B., Fleig A., Penner R.* The store-operated calcium current I-CRAC: Nonlinear activation by InsP(3) and dissociation from calcium release // *Cell.* 1997. Vol. 89. P. 973–980.
139. *Parekh A. B., Penner R.* Store depletion and calcium influx // *Physiol. Rev.* 1997. Vol. 77. P. 901–930.
140. *Park M. K., Ashby M. C., Erdemli G.* et al. Perinuclear, perigranular and subplasmalemmal mitochondria have distinct functions in the regulation of cellular calcium transport // *EMBO J.* 2001. Vol. 20. N 8. P. 1863–1874.
141. *Pessah I. N., Zimanyi I.* Characterization of multiple [^3H]ryanodine binding sites on the Ca^{2+} release channel of sarcoplasmic reticulum from skeletal and cardiac muscle: evidence for a sequential mechanism in ryanodine action // *Mol. Pharmacol.* 1991. Vol. 39. P. 679–689.
142. *Petersen C. C. H., Toescu E. C., Petersen O. H.* Different patterns of receptor-activated cytoplasmic Ca^{2+} oscillations in single pancreatic acinar cells: dependence on receptor type, agonist concentration and intracellular Ca^{2+} buffering // *EMBO J.* 1991. Vol. 10. P. 527–533.
143. *Petersen O. H.* Can Ca^{2+} be released from secretory granules or synaptic vesicles? // *Trends Neurosci.* 1996. Vol. 19. P. 411–413.
144. *Petersen O. H., Burdakov D., Tepikin A. Y.* Polarity in intracellular calcium signaling // *BioEssays.* 1999. Vol. 21. P. 851–860.
145. *Petersen O. H., Tepikin A., Park M. K.* The endoplasmic reticulum: one continuous or several separate Ca^{2+} stores? // *TRENDS in Neurosciences.* 2001. Vol. 24. N 5. P. 271–276.
146. *Pinton P., Pozzan T., Rizzuto R.* The Golgi apparatus is an inositol 1,4,5-trisphosphate-sensitive Ca^{2+} store, with functional properties distinct from those of the endoplasmic reticulum // *EMBO J.* 1998. Vol. 17. P. 5298–5308.
147. *Poulsen J. H.* Secretion of electrolytes and water by salivary glands. In: *Glandular Mechanisms of Salivary Secretion*, edited by Garrett JR, Ekstrom J, and Anderson LC. Basel, Switzerland: Karger, 1998. P. 55–72.
148. *Pralong W. F., Spät A., Wollheim C. B.* Dynamic pacing of cell metabolism by intracellular Ca^{2+} transients // *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269. P. 27310–27314.
149. *Proctor G. B.* Secretory protein synthesis and constitutive (vesicular) secretion by salivary glands // *Glandular mechanisms of salivary secretion* / Edit. J.R. Garrett, J. Ekstrom, L.C. Anderson. Basel: Karger, 1998. P. 73–88.

150. *Putney J. W.* Capacitative calcium entry revisited // *Cell calcium*. 1990. Vol. 11. P. 611–624.
151. *Radermacher M., Wagenknecht T., Grassucci R.* et al. Cryo-EM of the native structure of the calcium release channel/ryanodine receptor from sarcoplasmic reticulum // *Biophys. J.* 1992. Vol. 61. P. 936–940.
152. *Rizzuto R., Pozzan T.* Microdomains of intracellular Ca²⁺: molecular determinants and functional consequences // *J. Physiol. Rev.* 2006. Vol. 86. P. 369–408.
153. *Santella L.* The cell nucleus, an Eldorado to future calcium research? // *J. Membr. Biol.* 1996. Vol. 153. P. 83–92.
154. *Shull G. E., Greeb J.* Molecular cloning of two isoforms of the plasma membrane Ca²⁺-transporting ATPase from rat brain. Structural and functional domains exhibit similarity to Na⁺, K⁺- and other cation transport ATPases // *J. Biol. Chem.* 1988. Vol. 263. Is. 18. P. 8646–8657.
155. *Shuttleworth T. J.* Intracellular Ca²⁺ signalling in secretory cells // *J. Exp. Biol.* 1997. Vol. 200. Is. 2. P. 303–314.
156. *Smith J. S., Imagawa T., Ma J.* et al. Purified ryanodine receptor from rabbit skeletal muscle is the calcium-release channel of sarcoplasmic reticulum // *J. Gen. Physiol.* 1988. Vol. 92. P. 1–26.
157. *Soboloff J., Spassova M. A., Tang X. D.* et al. Orail and STIM Reconstitute Store-operated calcium Channel Function // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. P. 20661–20665.
158. *Sorrentino V., Volpe P.* Ryanodine receptors: how many, where and why? // *Trends Pharmacol. Sci.* 1993. Vol. 14. P. 98–103.
159. *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. Vol. 116. P. 547–559.
160. *Streb H., Irvine R., Berridge M.* et al. Release of Ca²⁺ from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol 1,4,5-trisphosphate // *Nature*. 1983. Vol. 306. P. 67–69.
161. *Supattapone S., Worley P., Baraban J. M.* et al. Solubilization, purification and characterization of an inositol trisphosphate receptor // *J. Biol. Chem.* 1988. Vol. 263. P. 1530–1534.
162. *Tada M., Kirchberger M. A., Katz A. M.* Phosphorylation of a 22,000-dalton component of the cardiac sarcoplasmic reticulum by adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase // *J. Biol. Chem.* 1975. Vol. 250. P. 2640–2647.
163. *Takuma T., Kuyatt B. L., Baum B. J.* Calcium transport mechanisms in basolateral plasma membrane-enriched vesicles from rat parotid gland // *Biochem. J.* 1985. Vol. 227. P. 239–245.
164. *Taylor C. W., Richardson A.* Structure and function of inositol trisphosphate receptors // *Pharmac. Ther.* 1991. Vol. 51. P. 97–137.
165. *Tepikin A. V., Voronina S. G., Gallacher D. V.* et al. Acetylcholine-evoked increase in the cytoplasmic Ca²⁺ concentration and Ca²⁺ extrusion measured simultaneously in single mouse pancreatic acinar cells // *J. Biol. Chem.* 1992. Vol. 267. P. 3569–3572.
166. *Tepikin A. V., Voronina S. G., Gallacher D. V.* et al. Pulsatile Ca²⁺ extrusion from single pancreatic acinar cells during receptor-activated cytosolic Ca²⁺ spiking // *J. Biol. Chem.* 1992. Vol. 267. P. 14073–14076.
167. *Thastrup O., Cullen P. J., Drobak B. K.* et al. Thapsigargin, a tumor promoter, discharges intracellular Ca²⁺ stores by specific inhibition of the endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1990. Vol. 87. P. 2466–2470.
168. *Thorn P., Lawrie A. M., Smith P. M.* et al. Ca²⁺ oscillations in pancreatic acinar cells: spatiotemporal relationships and functional implications // *Cell Calcium*. 1993. Vol. 14. N 10. P. 746–757.

169. Titievsky A. V., Takeo T., Tepikin A. V. et al. Decrease of acidity inside zymogen granules inhibits acetylcholine- or inositol trisphosphate-evoked cytosolic Ca^{2+} spiking in pancreatic acinar cells // *Pflugers. Arch.* 1996. Vol. 432. P. 938–940.
170. Tsugorka A., Rios E., Blatter L. A. Imaging elementary events of calcium release in skeletal muscle cells // *Science*. 1995. Vol. 269. P. 1723–1726.
171. Turner R. J., Sugiya H. Understanding salivary fluid and protein secretion // *Oral Diseases*. 2002. Vol. 8. P. 3–11.
172. Verma A. K., Filoteo A. G., Stanford D. R. et al. Complete primary structure of a human plasma membrane Ca^{2+} pump // *J. Biol. Chem.* 1988. Vol. 263. Is. 28. P. 14152–14159.
173. Voronina S. G., Sukhomlin T., Johnson P. R. et al. Correlation of NADH and Ca^{2+} signals in mouse pancreatic acinar cells // *J. Physiol. Lond.* 2002. Vol. 539. P. 41–52.
174. Walseth T. F., Lee H. C. Synthesis and characterization of antagonists of cyclic ADP-ribose // *Biochim. Biophys. Acta.* 1993. Vol. 1178. P. 235–242.
175. Wang M. G., Yi H., Hilfiker H. et al. Localization of two genes encoding plasma membrane Ca^{2+} ATPases isoforms 2 (ATP2B2) and 3 (ATP2B3) to human chromosomes 3p26-->p25 and Xq28, respectively // *Cytogenet. Cell Genet.* 1994. Vol. 67. N 1. P. 41–45.
176. Wuttke W., Munsch T., Deitmer J. Inhibition of voltage-dependent Ca^{2+} influx by extracellular ATP in salivary cells of the leech *Haementeria ghilianii* // *J. Exp. Biol.* 1996. Vol. 199, Issue 6. P. 1335–1341.
177. Yamasaki M., Masgrau R., Morgan A. J. et al. Organelle Selection Determines Agonist-specific Ca^{2+} Signals in Pancreatic Acinar and β Cells // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 7234–7240.
178. Yang C. M., Wu W. B., Pan S. L. et al. P2Y₂ receptor-stimulated phosphoinositide hydrolysis and Ca^{2+} mobilisation in tracheal epithelial cells // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2000. N 279. P. 235–241.
179. Yao Y., Choi J., Parker I. Quantal puffs of intracellular Ca^{2+} evoked by inositol trisphosphate in *Xenopus* oocytes // *J. Physiol.* 1995. Vol. 482. P. 533–553.
180. Yildirim E., Kawasaki B. T., Birnbaumer L. Molecular cloning of TRPC3a, an N-terminally extended, store-operated variant of the human C3 transient receptor potential channel // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005. Vol. 102. P. 3307–3311.
181. Zhang X., Wen J., Bidasee K. R. et al. Ryanodine receptor expression is associated with intracellular Ca^{2+} release in rat parotid acinar cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1997. Vol. 273. Is. 4. P. C1306–C1314.
182. Zhang X., Wen J., Bidasee K. R. et al. Ryanodine and inositol trisphosphate receptors are differentially distributed and expressed in rat parotid gland // *Biochem. J.* 1999. Vol. 340 (Pt 2). P. 519–527.
183. Zimmermann B. Control of InsP_3 -induced Ca^{2+} oscillations in permeabilized blowfly salivary gland cells: contribution of mitochondria // *J. Physiol.* 2000. Vol. 525.3. P. 707–719.
184. Zucchi R., Ronca-Testoni S. The sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} channel/ryanodine receptor: modulation by endogenous effectors, drugs and disease states // *Pharmacol. Reviews*. 1997. Vol. 49. Is. 1. P. 1–52.

**Ca²⁺-TRANSPORTING SYSTEMS OF EXOCRINE GLANDS
SECRETORY CELLS****B. Manko, V. Manko***Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: mankobo@gmail.com*

In this review we discuss present concepts of functioning of Ca²⁺-transporting systems in secretory cells of exocrine glands. In details are described voltage-operated, receptor-operated and store-operated Ca²⁺-channels of plasma membrane, ryanodine receptors, inositol-1,4,5-receptors of endoplasmic reticulum, Ca²⁺-pumps of plasma membrane and endoplasmic reticulum and Na⁺-Ca²⁺-exchanger of plasma membrane. Special attention is paid to cooperation of Ca²⁺-transporting systems and to generation and propagation of calcium signals in secretory cells.

Key words: voltage-operated Ca²⁺-channels, store-operated Ca²⁺-channels, ryanodine receptors, inositol-1,4,5-receptors, Ca²⁺-pump, Na⁺-Ca²⁺-exchanger, secretory cells.

Стаття надійшла до редколегії 08.09.08

Прийнята до друку 15.10.08