

О.П.Костюк

Внутрішньоклітинні детермінанти кальцієвих сигналів

Обзор рассматривает механизмы функционирования и регуляции депозависимых каналов и их связи с различными внутриклеточными кальцийрегулирующими структурами. Представлены функции рианодинчувствительного и инозитол-1,3-фосфатчувствительного эндоплазматического ретикулула. Показаны механизмы их связи с митохондриями и кальцийактивирующими каналами плазматической мембраны. Основное внимание уделено компенсаторному входу кальция связанного с опустошением эндоплазматического ретикулула, роли в этом процессе различных каналов транзиентного рецепторного потенциала и возможным механизмом их активации.

Відомо, що кальцій є одним із найбільш важливих іонів, які необхідні для міжнейронної сигналізації, формування процесів екзоцитозу та синаптичної передачі, розвитку синаптичної пластичності, а також перебігу апоптозу та некрозу. Іони кальцію надходять у клітини через молекулярні структури плазматичної мембрани – іонні канали, які детально досліджувалися протягом багатьох років. Разом з тим для передачі кальцієвих сигналів суттєве значення мають внутрішньоклітинні кальційрегулювальні структури (мітохондрії, ендоплазматичний ретикулум – ER і певні органічні кальційзв'язувальні сполуки). Останнім часом суттєвого значення почали надавати можливій взаємодії ER і мітохондрій, а також можливим зв'язкам з ними мембранних кальційпроникних каналів як потенціал- так і рецепторкерованих. У першу чергу зв'язки між мітохондріями та ER зумовлюються такими чинниками, як мітохондріальні кальцієві осциляції, що впливають на нього та викликають відповідні локальні сигнали. Крім того, мітохондрії та ER практично одночасно починають захоплювати Ca^{2+} при формуванні кальціє-

вого сигналу, але надалі його захоплення мітохондріями швидко посилюється, що можна пояснити більш близьким розташуванням мітохондрій до клітинної мембрани. ER набирає Ca^{2+} більш повільно, але виводить його швидше, ніж мітохондрії. Це може бути зумовлено взаємними впливами цих структур, кальційобмінну функцію яких доцільно спочатку розглянути окремо.

Роль ER. Функціонально розрізняють у клітині два типи ER – ріанодин- та инозитолтрифосфатчутливий (IP_3), що мають різні властивості. По перше, вони керуються неоднаковими механізмами: ріанодинчутливий ER при деполяризації мембрани забезпечує кальційзалежне виділення іонів калію з депо. Разом з тим існує допоміжний стимулятор цього процесу – це циклічна АДФ-рибоза, що утворюється за допомогою ферменту АДФ-рибозилциклази. Цікаво, що ріанодин антагонізує вплив цього фактора. Ріанодиновий тип депо розташований біля потенціалкерованих кальцієвих каналів L-типу, котрі можуть безпосередньо виділяти Ca^{2+} з чутливого ER (через зв'язок протеїн – протеїн). При цьому іони кальцію зв'язуються з конформаційно-

зміненими р'іанодиноними рецепторами у відкритому стані. Така їх особливість може призвести до спустошення депо. Отже, функція р'іанодинового EP може бути пов'язана з активацією потенціалкерованих кальцієвих каналів, сприяючи утворенню відносно самостійного внутрішньоклітинного обміну іонів кальцію [4].

IP₃-чутливий EP, по-перше, не є повністю потенціалчутливим, а може сприймати і сигнали, що надходять за допомогою посередника від нейротрансмітерів, нейромодуляторів і гормонів. Ця ланка передає сигнал за допомогою зв'язку мембранних рецепторів з G-білками та надалі на фосфоліпазу C з утворенням IP₃. Другою можливістю може бути утворення під впливом фосфоліпази C діацилгліцеролу з наступною активацією протеїнкінази. Остання є додатковим шляхом, через який EP може впливати на мембранні потенціалкеровані канали. Не виключають, що EP також пов'язаний з мітохондріями. Таким чином, можна зробити наступний висновок: найсуттєвіша різниця між цими двома типами EP полягає у залежності та тісному взаємозв'язку чутливого ретикулума з потенціалкерованими кальцієвими каналами та мітохондріями, в той час як IP₃-чутливий ретикулум активується переважно рецепторним шляхом, але може залежати також від активності мітохондрій.

Роль депокерованих каналів. Останнім часом відкрито додаткові механізми, що можуть визначати властивості кальцієвих сигналів. Одним із них є окремий тип кальцієвих каналів плазматичної мембрани, так званих депокерованих каналів, функція яких, як правило, відповідає або поєднана зі спустошенням EP [7]. Можливо, в цьому процесі активації депокерованих каналів беруть участь також мітохондрії, які швидко набирають іони кальцію з цитоплазми, а потім поступово вивільняють їх. Завдяки цій групі каналів активується так званий емнісний (компенсаторний) вхід

кальцію, що сприяє короткочасному його підвищенню в цитозолі та перезавповненню депо [5, 6]. У разі, коли кальцієві сигнали супроводжуються повторними осциляціями, компенсаторний вхід кальцію зумовлює досягнення максимального заповнення депо Ca²⁺ та підтримку постійної амплітуди таких осциляцій. При відсутності компенсаторного надходження Ca²⁺ амплітуда осциляцій та їх частота суттєво знижуються. Тривалий час вважалося, що компенсаторний вхід кальцію відсутній у нервових клітинах, але останнім часом показана його наявність у нейронах дорсальних гангліїв, клітинах Пуркін'є, окремих клітинах гіпокампа тощо [51, 53].

Найбільш дослідженими каналами з цієї групи є ті, що активуються вивільненням із депо Ca²⁺ CRAC-каналами (від англ. calcium-release activated channels). Вони викликають компенсаторний вхід Ca²⁺ у відповідь на спустошення депо, і їх активація є потенціалнезалежною [37]. Але гіперполяризація плазматичної мембрани призводить до підвищення електрорушійної сили для входу Ca²⁺ у клітину. Тому амплітуда кальцієвого струму при гіперполяризації збільшується. Тим самим підтримується стабільний вміст Ca²⁺ в EP і, відповідно, відносна стабільність його в цитозолі. Головними властивостями цих каналів є висока селективність для Ca²⁺ при практично повній відсутності проникності для інших катіонів, включаючи Na⁺ [42, 56]. CRAC-канали потребують зовнішньоклітинних іонів кальцію для підтримання максимальної їх активності – процес, що описується як кальційзалежна потенціація та спостерігається (приблизно через 10 с) після зворотного заповнення кальцієве депо. Усунення Ca²⁺ з зовнішньоклітинного розчину або заміна його іншими двовалентними іонами (наприклад, Ba²⁺) не підтримує процес такої потенціації, тим самим сприяючи повільному зменшенню активності каналів. Точний механізм виникнення такого процесу

до кінця не зрозумілий. Слід відзначити, що CRAC-канали характеризуються настільки незначною проникністю для Ca^{2+} , що вимірювання активності окремих поодиноких CRAC-каналів майже неможливе. Тому дослідження їх проводиться на основі вимірювання сумарних струмових шумів. Незначна провідність також пояснює чому ці струми інактивуються практично негайно [38, 56]. Таким чином, локальна сигналізація через CRAC-канали може бути просторово більш вузькою, ніж локальна сигналізація через потенціалкервані канали. Було з'ясовано, що струми CRAC-каналів можуть реєструватися досить тривало. Це можна пояснити їх повільною інактивацією, залежною від вмісту внутрішньоклітинного Ca^{2+} . Їх спад може продовжуватися до 10 с. Цей кальційзалежний інактиваційний шлях подавляється введенням кальцієвого хелатора ЕГТА. Його механізм остаточно не зрозумілий. У лімфоцитах вихід із такого інактиваційного процесу може бути попереджений блокаторами протейнінази, що дозволяє припустити в ньому участь АТФ. У багатьох клітинах повільна інактивація упереджується, якщо мітохондрії знаходяться в фізіологічно активному стані. Частковий вплив на CRAC-канали та на потенціалкервані канали може мати і кальмодулін [50]. У ендотеліальних клітинах діаліз з останнім може знижувати концентраційнозалежну здатність тапсигаргіну активувати депокеровані струми. Загалом кальмодулін знижує депокеровані струми майже на 40 % [54]. В ооцитах Хепорус, навпаки, було показано, що кальмодулін потенціює депокероване надходження кальцію внаслідок активації кальційкальмодулінзалежної протейнінази II. Після спустошення депо відповідне підвищення вмісту цитозольного кальцію активує кальмодулінкіназу, яка потім підсилює депокероване надходження кальцію, можливо, через зміни відкривання воріт каналів, а не внаслідок впливу на активуючий сигнал [31].

Слід зазначити, що, крім повільної, існує швидка інактивація струмів, що відображає субплазмолемальні “вбудовані” мікродомени Ca^{2+} внаслідок близького розташування до кожного відкритого каналу. Така інактивація розвивається біекспоненціально за часовими константами 10 та 100 мс та може легко спостерігатися при прикладанні гіперполяризаційних поштовхів до негативних потенціалів (більше ніж -60 мВ). При такому протоколі CRAC-канали суттєво підвищуються (в зв'язку з підвищенням рушійної сили), але потім дуже швидко знижуються. Така інактивація суттєво повільніша, якщо Ca^{2+} замінити на Ba^{2+} . Швидка інактивація зменшується але повністю не зникає при наявності хелатора Ca^{2+} -ВАРТА. У розчинах, вільних від двовалентних катіонів, такої інактивації при гіперполяризаційних “кроках” не спостерігається, що підкреслює відсутність постійного потенціалкерваного компонента у інактиваційному процесі. При фізіологічному рівні мембранного потенціалу (-90 мВ) швидка інактивація сягає не більше ніж 30 % від амплітуди I_{CRAC} . Вихід з інактиваційного процесу є біекспоненціальним процесом з постійною часу 10–500 мс. При активації рецепторів властивості швидкої інактивації не змінюються, що дозволяє припустити, що цей процес не є рецепторзалежним, а знаходиться під контролем змін мембранного потенціалу [54, 55].

При дослідженнях було зазначено, що CRAC-канали більш селективні для Ca^{2+} , ніж потенціалкервані кальцієві канали.

Вивчення проникності цих каналів до інших двовалентних катіонів ускладнюється через те, що вони, як уже вказувалося, вимагають наявності Ca^{2+} для прояву їх максимальної активності – процес, який називається кальційзалежною потенціацією (хоча думки різних авторів з приводу того, чим зумовлена така потенціація, суперечливі [56]). Заміна Ca^{2+} на Ba^{2+} чи Sr^{2+} призводить до зниження

активності цих каналів. Висока афінність CRAC-каналів запобігає проникності для Na^+ . Якщо знизити концентрацію зовнішньоклітинного Ca^{2+} , то через CRAC-канали можуть проходити великі натрієві струми. При підвищенні концентрації Ca^{2+} натрієві струми суттєво знижуються. Приблизна константа дисоціації для блокування Ca^{2+} натрієвих струмів близька до 10 мкмоль/л [37].

Дослідження за допомогою *fura-2* показали чітку кореляцію між заповненням депо та зникненням надходження кальцію через депокеровані канали. Діаліз клітин із значною кількістю кальцієвого хелатора (наприклад, 1,4 ммоль/л ЕГТА) призводить до початкового виникнення I_{CRAC} з їх повною деактивацією через 100–200 с [44]. Зниження I_{CRAC} може бути частково реверсоване за допомогою тапсигаргіну; це підкреслює, що перезавнення депо дає певний внесок у зниження амплітуди струмів.

Під час дослідження механізмів селективності та проникності депокерованих каналів відмічено низку їх цікавих характеристик. Було зазначено, що CRAC-канали та потенціалкервані кальцієві канали мають схожі властивості. Так, при усуненні двовалентних катіонів із зовнішнього середовища вони стають проникні для іонів натрію. За таких умов канали характеризуються певною послідовністю проникності для різних двовалентних іонів, а саме $\text{Ca}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ba}^{2+}$. Надалі було з'ясовано, що CRAC-канали мають таку саму послідовність проникності для двовалентних іонів; струм, що проходить через них був значно меншої амплітуди (приблизно в 550 разів) через менший розмір пор і дуже високу селективність їх для Ca^{2+} .

Як уже згадувалося, дослідження поодиноких CRAC-каналів дуже ускладнюється низькою їх провідністю. Таке вимірювання можна полегшити замінивши Ca^{2+} на Na^+ (оскільки ці канали за відсутності Ca^{2+} проводять Na^{2+}). Теоретично це могло б полегшити реєстрацію поодиноких кана-

лів. Без Ca^{2+} CRAC-канали поступово інактивуються (майже на 90 %). Проте, якщо забрати внутрішньоклітинний Mg^{2+} , то тривалість цих струмів дуже подовжується (майже на 25 %). Пізніше було виявлено, що канали, які активуються при видаленні Mg^{2+} – це не CRAC-канали, а так звані Mg^{2+} -інгібовані канали. Вони не є депокерованими, значно менш чутливі до блокторів CRAC-каналів (SKF9635 та APB) і пригнічуються внутрішньоклітинним магнієм. Крім того, вони значно більш проникні для іонів цезію, ніж CRAC-канали. Хоча загальна характеристика цих двох типів каналів схожа, але певні зміни активаційних механізмів, фармакології та іонної селективності підтверджують, що Mg^{2+} -інгібовані канали являють собою специфічну групу каналів. Саме внаслідок їх катіонної селективності та чутливості до Mg^{2+} вони були так названі. Регулюються ці канали внутрішньоклітинною АТФ, тому їх також називають Mg^{2+} -нуклеотидрегульованими каналами [25, 39, 40].

Механізми спустошення внутрішньоклітинних кальцієвих депо. Було показано, що активація L-типу кальцієвих каналів при деполяризації викликає також активацію ріанодинових рецепторів ER. Зв'язок швидше за все є двостороннім, оскільки ріанодинові рецептори в свою чергу можуть впливати на кінетику каналів L-типу. Ці канали мають рецептори до дигідропіридинів і являють собою гетеропентамери з загальною молекулярною масою приблизно 430 кДа. Було висунуто гіпотезу, що вони пов'язані з ріанодиноними рецепторами ER стереоскопічно. У скелетних м'язах ріанодин при утворенні зв'язку з дигідропіридиноними рецепторами викликає конформаційні зміни останніх. Такий зв'язок можливий лише у разі, якщо два канали знаходяться у молекулярному контакті або завдяки наявності внутрішнього опосередкованого протеїну. Специфічність такого зв'язку також зумовлена можливістю реципрокного

сигналу між ріанодиноними та дигідропіридиновими рецепторами. Спостереження показують, що можливою умовою зв'язування ріанодиноних рецепторів з дигідропіридиновими є їх зв'язування з високоафінними провідними порами. Показано, що в нейронах між L-типом каналів і ріанодиноними рецепторами також існує взаємозв'язок за типом протеїн-протеїн. Проте ці дослідження тільки розпочинаються.

Депокеровані канали активуються у відповідь на прикладання кофеїну та ріанодину. Однак спустошення депо під впливом кофеїну відбувається значно швидше, ніж при використанні ріанодину. Пояснити цей феномен можна тим, що активування депо у останньому випадку відбувається під впливом неприродного алкалоїду. Крім того, активування депо під впливом ріанодину відбувається лише при прикладанні його у низьких концентраціях (при цьому канали залишаються відкритими), але у разі його високих концентрацій канали закриваються та компенсаторне надходження кальцію стає малоімовірним. Характерними рисами зв'язку депокерованих каналів ріанодинового ретикулума є те, що вони інгібуються прикладанням La^{2+} та Ni^{2+} . Водночас CRAC-канали, пов'язані з IP_3 -рецепторами, цими іонами не інгібуються. Їх основними пригнічувачами є мембранопроникний інгібітор IP_3 -рецепторів 2 – APB (2-аміноетоксидифенілборан) [36, 37].

Першим кроком для активації депокерованих каналів є зниження вмісту внутрішньоклітинного кальцію. Для цього, безумовно, необхідний сенсор такого зниження, але нині він чітко не визначений [3, 24]. Не в усіх клітинах депокеровані канали мають однакові властивості, але вони завжди селективні для кальцію, залежать від коливання потенціалу мембрани та можуть змінюватися під впливом зміни активності Ca^{2+} -АТФази, функції мітохондрій і можливих інших, не до кінця визначених факторів [38].

Швидше за все робота мітохондрій як депо може попереджувати суттєве підвищення та зниження вмісту Ca^{2+} в цитозолі, тим самим практично припиняючи повільну інактивацію ємнісного входу кальцію [53, 55].

Отже, першим кроком для активації депокерованих каналів є спустошення внутрішньоклітинних депо. Не зовсім зрозуміло, передається цей сигнал прямо чи через дію якихось факторів. Для цього, безумовно, необхідний сенсор, ним можуть бути IP_3 -рецептори. У зв'язку з дуже низькою провідністю поодиноких депокерованих каналів, було одночасно висунуте припущення про те що, навпаки IP_3 -рецептори можуть безпосередньо активувати ємнісний вхід кальцію. Проти такого припущення висунуто низку заперечень. Показано, що у лімфоцитах “нокаутних” мишей, у яких усі три типи IP_3 -рецепторів, ємнісний вхід кальцію не змінювався. Тобто швидше за все для передачі сигналу про спустошення кальцієвих депо безпосередня активація IP_3 -рецепторів не потрібна, але вони можуть впливати на цей процес або на його етапи під можливим впливом якогось фактора, або взагалі не брати участь у ньому, а лише діяти через стимуляцію мітохондрій [36].

Було висунуто також друге припущення, що такий білок як кальретикулін може бути фактором, що керує спустошенням депо. Він становить близько 1–2 % складу білків ER і має низьку афінність до Ca^{2+} . Така думка виникла як відносно ріанодинчутливих, так і IP_3 -рецепторів [46]. Проте оскільки у “нокаутних” мишей без кальретикуліну не спостерігалось змін депокерованих струмів, теорію їх виникнення внаслідок конформаційного зв'язування білків було поставлено під сумнів.

Ще однією можливою причиною виникнення депокерованих струмів розглядався вплив так званого фактора входу Ca^{2+} , котрий знайдено як низькомолекулярний екстракт у незбудливих клітинах [43]. Його

виділення, як правило, виникало внаслідок спустошення депо завдяки тапсигаргіну чи агоністів IP_3 -рецепторів. Припускали, що він включає низку мультифункціональних факторів, що можуть викликати внутрішньоклітинні сигнали, котрі хоча б частково вказували про спустошення депо або про його наповнення. Молекулярна маса фактора входу Ca^{2+} становить близько 600 Да, він діє лише внутрішньоклітинно, або, можливо, у деяких клітинах через кальцій-залежні хлорні канали. Було показано, що фактор входу Ca^{2+} може активувати фосфоліпазу A2 – ензим, що розташований близько до мембрани. Цей фосфоліпід може призводити до генерації ліпофосфоліпідів та арахідонової кислоти з формуванням безпосередньо відкритих каналів. У клітинах шурів, хворих на лейкемію, фактор входу Ca^{2+} підсилює активацію I_{CRAC} . У експериментах з ЕДТА депо спустошуються повільно, тобто цей фактор підвищує активацію I_{CRAC} проте неясно, чи може він бути безпосереднім сигналом, що зв'язує спустошення депо з відкриванням CRAC-каналів. Якщо враховувати, що спустошення депо, спричинене хелатором, є процесом кінетично комплексним, що включає виділення Ca^{2+} з депо, хелатування цитозольного Ca^{2+} та його перезахоплення депо за допомогою SERCA, то фактор входу Ca^{2+} , впливаючи на будь-який з цих факторів, може діяти на депокеровані канали [13, 14].

Розглядається також можливість появи депокерованих каналів у цитоплазматичній мембрані під впливом екзоцитозу, тобто, що вони не існують у мембрані в стані спокою, а вбудовуються в неї за допомогою механізму екзоцитозу. Припускалось, що вони є в цитозолі у вигляді везикул, які під впливом сигналів з депо вбудовуються в мембрану. Доказом було те, що примаквін, який впливає на вбудовування везикул у мембрану, порушує утворення депокерованих каналів. Але невідомо, наскільки

цей препарат специфічний. Такі речовини, як токсин ботуліновий та інші фармакологічні агенти, що можуть впливати на сенсорні процеси та екзоцитоз, не діють на виникнення та функцію I_{CRAC} . Таким чином, ця теорія також вимагає подальших доведень [37].

Поряд з теоріями, що розглядають можливість активації каналів через особливі посередники, існують і такі, відповідно до яких активуючими та деактивуючими канали факторами – є метаболічні речовини (наприклад, арахідонова кислота та діацилгліцерол), які переважно належать до ланки G-білки–фосфоліпаза C. Так, арахідонова кислота може стимулювати NO-синтазу, що призводить до утворення оксиду азоту. Такий факт цікавий тим, що NO може бути пов'язаним з функцією мітохондрій і координуванням компенсаторного та некомпенсаторного входу Ca^{2+} [9]. Вплив фосфоліпази C може призводити до стимуляції РКС, що активує різні потенціалкервані канали, при цьому по-різному у різних клітинах і, відповідно, сприяє закриванню депокерованих каналів. Так, останнім часом було показано, що NO може сприяти ємнісному входу Ca^{2+} та що певні донори NO пригнічують цей вихід, викликаний тапсигаргіном, і що ємнісний вхід кальцію не активується, коли протонний ланцюг мітохондрій колапсований за допомогою протофору СССР. При цьому вміст АТФ/АДФ не змінюється. Слід зазначити, що існує три ізоформи ферменту NO синтази – індуцибельна, епітеліальна та нейрональна. Остання тісно пов'язана з внутрішньоклітинним Ca^{2+} , дія цих ферментів може відрізнитися. Так, в ацинарних та епітеліальних клітинах NO потенціює ємнісний вхід кальцію, але пригнічує його в тромбоцитах, нейронах і скелетних м'язах. Можливо, така різниця пов'язана з тим, що NO може впливати на клітини через гуанілатциклазний та нециклазназалежні шляхи. Слід зауважити, що метабо-

лічні теорії викликають певну необхідність у подальших доведеннях, оскільки вони стосуються переважно зв'язку з NO та CRAC-каналами, і не всі з них можуть поєднуватися з активацією ріанодинзалежного ретикулула [9].

Імовірно, що найбільш розповсюдженою з усіх теорій про активуючі сигнали є теорія відносно фактора входу Ca^{2+} , оскільки вона практично єдина, яка може стосуватись як IP_3 , так і ріанодинчутливих депо [37].

Роль мітохондрій у функції депокерованих каналів. Без сумніву, в фізіологічних умовах суттєве значення для внутрішньоклітинного обміну Ca^{2+} можуть мати мітохондрії як кальцієве депо. Захоплюючи Ca^{2+} , що виділяється з ER, вони можуть впливати на ємнісний його вихід. Нині є багато даних про те, що між IP_3 -чутливим депо та мітохондріями виникає локальна передача кальцієвих сигналів. Близьке розташування ER і мітохондрій показує, що кластери в мембрані ER повернені "обличчям" до мітохондрій. Тобто кількість мітохондріального Ca^{2+} може контролюватися локально внаслідок швидкого підвищення вмісту Ca^{2+} біля мітохондрій. Було висунуто дві теорії: що мітохондріальне захоплення активується незалежно від IP_3 при зміні цитозольного кальцію, або що між ними та ER існує зв'язок за типом синаптичної передачі. Водночас такі локальні зміни можуть відбуватися за рахунок ємнісного входу кальцію. Деполяризація мітохондрій через зміну дихального ланцюга або пригнічення кальцієвого уніпортера попереджує виникнення ємнісного входу кальцію. Мітохондріальне захоплення Ca^{2+} також послаблює взаємодію між IP_3 -ER та ємнісним входом кальцію приблизно у два рази. Крім доповнення спустошення депо, мітохондрії також можуть підтримувати надходження Ca^{2+} внаслідок зменшення його накопичення та рівня кальційзалежної інактивації. Такий процес відмічається лише у фізіологічному стані мітохондрій,

але змінюється при зміні функції мітохондрій. Крім того, конкуруючи з Ca^{2+} -АТФазою, мітохондрії можуть також уповільнювати швидкість накопичення Ca^{2+} в ER [18]. Цікаво, що у тих клітинах, де мітохондрії розташовані близько до мембрани, вони можуть уповільнювати надходження Ca^{2+} у клітину через кальцієві канали, активуючи при вивільненні Ca^{2+} кальційзалежні калієві канали.

Мітохондрії, що дихають, тобто з нормальним окиснювальним фосфорилуванням розташовані близько до ER і можуть захоплювати Ca^{2+} , який вивільнюється з його депо, що може регулювати ємнісний вхід кальцію. Вони також можуть до певної міри перешкоджати зворотному пригніченню ємнісного входу кальцію, якщо розташовані близько до плазматичних каналів і швидко захоплюють Ca^{2+} , котрий надходить у цитоплазму. Для незбудливих клітин було постульовано, що зниження мембранного потенціалу їх мітохондрій може призводити до посилення надходження Ca^{2+} у клітини, активуючи спустошення депо та тим самим змінюючи активність ємнісного входу кальцію. Такого зниження можна досягти за допомогою протонифору СССР, антимицину-А разом з олігоміцином. Пригнічення окиснювального фосфорилування суттєво знижує надходження Ca^{2+} у мітохондрії. Цей ефект частково може бути зумовлений рівнем зовнішнього рН. При алкалізації розчину з протонифорами до 7,8 суттєво знижувалася чутливість ємнісного входу кальцію до мітохондрій [18]. Водночас внутрішньоклітинна алкалізація суттєво не змінювала вплив мітохондрій на ємнісний вплив кальцію, тобто зсув внутрішньомітохондріального рН не може бути пов'язаним із впливом зовнішньоклітинного рН. Таким чином, для активної участі мітохондрій у підтриманні ємнісного входу кальцію необхідний зовнішньоклітинний рівень рН близький до нормального. Водночас при зсуві зовнішньоклітинно рН

до 6 вплив мітохондрій на надходження кальцію різко підсилювався. Отже, як внутрішньоклітинне, так і зовнішньоклітинне значення рН мають конкуруючий вплив та свої сенсори, чутливі до зміни водневого показника. Очевидно, що чіткість регулювання ємнісного входу кальцію мітохондріями залежить від їх енергетичного стану, саме на який впливає зміна рН [42].

Останнім часом у нервових клітинах і кардіоміоцитах відкрито ще один тип каналів, які можуть брати участь і, можливо, ускладнювати дослідження ємнісного входу кальцію. Це так звані кальційчутливі неселективні канали [8, 18]. Вони активуються при суттєвому зниженні зовнішньоклітинного Ca^{2+} та викликають повільно наростаючі та тривалі трансмембранні струми. Слід зазначити, що ці канали також чутливі до зміни рН: при значенні рН 8,5 істотно підсилюється їх струми, а зниження цього показника до 6,0 викликає їх пригнічення, знижуючи збудливість клітин.

Наступним цікавим моментом у функції мітохондрій є той факт, що вони можуть при спустошенні IP_3 -депо стимулювати ємнісний вхід кальцію разом з неселективним входом Ca^{2+} через рецептори, що стимулюють гідроліз IP_3 . Припускається, що арахідонова кислота, яка пригнічує ємнісний вхід кальцію, може активувати неселективний вхід Ca^{2+} , тобто впливаючи на обидва процеси (остання її властивість показана недавно, і такі результати є до певної міри сумнівними). Таким чином, ємнісний і неселективний вхід Ca^{2+} можуть корелювати [18].

Роль каналів транзитного рецепторного потенціалу. Важливим завданням є визначення молекулярної структури депокерованих каналів. Останнім часом відкрито групу так званих каналів транзитного рецепторного потенціалу. Це досить велика група каналів, різних за характеристиками. Не всі з них є депокерованими каналами, проте частина їх має

саме таку функцію. Існує 7 типів таких каналів. Як правило, вони зберігають основні властивості каналів з 6 трансмембранними доменами S1-S6 які являють собою субодиниці тетрамерних каналів. З групи каналів транзитного рецепторного потенціалу С уперше було досліджено їх підтип – С1-канали. Дослідження показали, що вони найбільш розповсюджені у мозку, серці, аортальних ендотеліальних клітинах, слинних залозах, печінці та надниркових залозах. Незважаючи на певні протиріччя, в літературі є дані, що цей тип каналів може виступати як депокеровані канали або як субодиниця депокерованих каналів [21]. Роботи Ambudсар та співавт. [2] показали роль каналів транзитного рецепторного потенціалу С, схожу з такими, що дозволяють депокероване надходження Ca^{2+} , але за своїми біофізичними характеристиками вони різко відрізняються від CRAC-каналів. Не виключено, що ці канали формують гетеромультимери з власне CRAC-каналами, що підкреслює можливість їх участі на ранніх етапах депокерованого надходження Ca^{2+} [33, 41].

Канали транзитного рецепторного потенціалу С3, С6 та С7, як правило, розглядаються разом, оскільки вони дуже схожі за своєю структурою та дією. Питання про функціональну регуляцію каналів С3 є також дискусійним [23]. Вони регулюються через фосфоліпазу С, проте одночасно не знімається питання про те, що вони можуть регулюватись IP_3 -рецепторами та діагліцеролом і його похідними. Електрофізіологічні дослідження на клітинній лінії НЕК-293 показали великі неселективні струми, на які не впливали IP_3 та тапсигаргинзумовлене спустошення депо; проте вони суттєво пригнічувалися внутрішньоклітинним накопиченням Ca^{2+} , що дає змогу припустити залежність їх активності від цих іонів. Більше того, активність цих каналів не підвищувалася за наявності кальмодуліну. Це відрізняється від даних

відносно каналів транзитного рецепторного потенціалу С1, де було відмічено, що їх активація спостерігається лише після спустошення депо. Загальний висновок нині – що канали транзитного рецепторного потенціалу С3 не відносяться до депокерованих каналів [30].

Коли було клоновано канали транзитного рецепторного потенціалу С4 та С5 з'ясувалося, що вони дуже схожі за своїми функціональними особливостям; активуються тапсигаргіном і діалізом IP_3 з ЕГТА, проникні для Ba^{2+} та Ca^{2+} , що призводить до виникнення струмів характерних для депокерованих струмів. Було показано, що оверекспресія цих каналів у незбудливих клітинах може призвести до двохразової потенціації ємнісного входу кальцію після спустошення внутрішньоклітинних депо за допомогою тапсигаргіну. Цікавою ознакою цих каналів є те, що експресія каналів транзитного рецепторного потенціалу С4 призводить до підвищення калієвих струмів. Не зовсім зрозуміло, чи беруть вони участь у формуванні цих струмів та яка їх роль у формуванні відповідних каналів. Нині більшість авторів дійшли до висновку, що канали транзитного рецепторного потенціалу С4 та С5 не є депокерованими в повному значенні цього поняття, але вони можуть активуватися за допомогою фосфоліпази С [19].

Зупинимось коротко на каналах транзитного рецепторного потенціалу М7. Видалення одновалентних іонів не змінювало струми через ці канали, це дозволяло припустити, що вхідні струми в них підтримуються двовалентними катіонами. В розчині без двовалентних катіонів вони високопроникні для одновалентних катіонів. Подальші експерименти показали, що пори цих каналів високопроникні для Mg^{2+} та Ca^{2+} . Водночас вихідні струми пригнічувалися при підвищенні концентрації Mg^{2+} . Ця група каналів цікава тим, що за своїми властивостями вона схожа на Mg^{2+} -інгібо-

вані канали, про які згадувалося вище [41].

Усі ці канали мають цікаву особливість. Хоча з літератури відомо, що вони керуються фосфоліпазою С, чіткої відповіді на питання, який саме фактор впливає на їх активацію, немає. Показано, що домени каналу транзитного рецепторного потенціалу можуть зв'язуватися з IP_3 і кальмодуліном у кальційзалежний спосіб, що може відкривати канали транзитного рецепторного потенціалу С, проте деякі автори вважають, що IP_3 може лише контролювати сигнал, що надходить з клітини при спустошенні депо [18, 34].

Особлива роль ванілоїдних рецепторів. Підгрупа каналів транзитних рецепторних потенціалів, мабуть, становить найбільший інтерес. Ця підгрупа рецепторів активується різними типами стимулів, включаючи температуру, протони, форболи, фосфорилування, зміни у зовнішньоклітинній осмолярності чи тиску, спустошення внутрішньоклітинних депо. Загалом описано 6 типів цих іонних каналів, кожен з яких активується відповідною температурою. Лише один з цих типів, а саме V1, активується такими ванілоїдами, як капсаїцин [10, 20] і, відповідно, позначається як ванілоїдні рецептори. Ці канали є молекулярними “кандидатами” для характеристики тих сенсорних процесів, які можна фізіологічно оцінювати як больову чутливість (ноцицепцію). Не виключено, що саме вони через компенсаторний вхід кальцію можуть бути однією з структур для лікування ноцицептивних хвороб [15, 47, 48].

Ванілоїдні рецептори, що відповідають за ноцицептивну провідність, розташовані переважно в сенсорних нейронах дорсально-корінцевих і тригемінальних гангліїв [35]. Серед сенсорних нейронів вони локалізуються в нейронах дорсального рогу середнього та малого розміру та можуть активуватись як больовими стимулами, так і певними змінами температури [16]. Ці нейрони дають чітку відповідь на капсаїцин,

що вперше було показано при проведенні лікування нейропатій [22]. Застосування капсаїцину може викликати зміни в мембранній провідності [12] та призвести до виділення таких сенсорних больових нейропептидів, як субстанція Р, кальцитонін-генпов'язаний пептид тощо [47]. Останнім часом виявлено ще низку інших каналів (канали, що активуються протонами) які відповідають на аплікацію капсаїцину [16]. Зниження рН викликає досить сильні струми безпосередньо через ванілоїдні канали та підсилює відповідь їх на підвищення температури [16, 17]. Більше того, показано, що активація ванілоїдних каналів може підсилювати дію медіаторів брадикініну, гістаміну, серотоніну, простагландину E2 [29]. Можливо, цей зв'язок є не прямим, а якимось чином конвертується через вторинні посередники. Цікаво, що такі лікарські препарати, як аспірин і дихлофенак, що використовуються як антизапальні фактори, можуть частково блокувати активність ванілоїдних рецепторів [47]. З іншого боку, нервовий фактор росту сенсорних нейронів може відігравати одну з основних ролей у чутливості до капсаїцину. Якщо неонатальних щурів позбавити нервового фактора росту, то чутливість до капсаїцину у них зникає. РНК ванілоїдних рецепторів знаходять у досить різних структурах мозку, а саме: у мозочку, корі великих півкуль, гіпокампі, таламусі, середньому мозку та варолієвому мосту. Слід зазначити, що існує дуже могутній аналог капсаїцину – резиніферотоксин, який має унікальні біологічні властивості. Його застосування викликає значно більш подовжені струми через ванілоїдні канали [1, 52]

За даними деяких авторів [24, 27], стимуляція ванілоїдних рецепторів може супроводжуватися десенситизацією. Вона може бути зумовлена концентрацією капсаїцину, подовженістю його аплікації та залежністю від зовнішнього або внутріш-

нього вмісту Ca^{2+} . Припускають, що для цих рецепторів внутрішній Ca^{2+} викликає лише біохімічні зміни, які можуть сприяти їх активації завдяки фосфорилуванню. Дефосфорилування ванілоїдних рецепторів через кальційзалежні фосфатази, навпаки, знижує їх активність. Наскільки ця модель реальна – залишається під питанням. Інша модель, що пропонується, більш складна. Електрофізіологічні дослідження на ооцитах *Xenopus* показали, що у випадку з ванілоїдними рецепторами внутрішньоклітинний Ca^{2+} викликає лише невеликі зміни активності ванілоїдних каналів, а зміни зовнішньоклітинного Ca^{2+} – або десенситизацію, або досить сильні компенсаторні вхідні кальцієві струми. Десенситизація ванілоїдних рецепторів практично відображає викликані агоністами конформаційні зміни рецепторів, що призводить до закривання каналних пор. Це підтверджується тим, що капсаїцин викликає струми різної кінетики залежно від ступеня десенситизації і що ванілоїдні рецептори активуються через низку проміжних станів [28].

Стимуляція ванілоїдчутливих нейронів полягає у неспецифічному відкриванні пор катіонних каналів і надходженню переважно Ca^{2+} (як уже згадувалося вище). Це може призвести до деполяризації мембрани і при досягненні порогового рівня спричинить генерацію тривалого розряду потенціалів дії, що може утримувати досить довго больовий синдром. Швидше за все рецепторний сигнал надходить до клітини з наступною його передачею на фосфоліпазу С та утворення діацилгліцеролфосфату [49]. Надалі активується певний комплекс нейротрансмітерів. Було показано, що селективний антагоніст NMDA (N-метил-D-аспарогінова кислота) рецепторкерованих іонотропних каналів ефективно блокує біль при ін'єкції мишам капсаїцину. Більше того, введення щурам NMDA у цереброспинномозкову рідину викликає гострий біль з наступною гіперальгезією та алодо-

нією, що підсилюється після підшкірного введення капсаїцину. Отже, швидше за все капсаїцин може викликати виділення глутамату з нейронів дорсального рогу спинного мозку, 85 % з яких мають NMDA-рецептори. У пресинаптичних нейронах також не виключена наявність NMDA-рецепторів, що сприяють полегшенню больової передачі. Хоча сенситизація в основному опосередковується NMDA-рецепторами. Крім того, дуже цікаво, що зворотне захоплення глутамату ванілоїдними закінченнями може полегшувати больовий ефект субстанції P, що сприяє розвитку гіперальгезії. Деякі автори припускають, що активуючий вплив на глутамат можливий через дію NO.

Другим фактором, що сприятиме зумовленої ванілоїдами болі, може бути підключення активності цАМФ. Інгібітори аденілатциклази знижують механічну гіперальгезію та алодонію, зумовлену цАМФ. Більше того, цілеспрямована інактивація гена, що кодує неспецифічну ізоформу регуляторної субодиниці цАМФ-залежної протеїнкінази A, суттєво знижує гіперальгезію при субдермальному введенні капсаїцину. Можливо, це пов'язано з тим, що цАМФ викликає фасилітацію дії простагландину E на капсаїцинзумовлену дію. Але, враховуючи те, що цей каскад впливає також на активацію мембранних кальцієвих каналів, така теорія залишається сумнівною.

Крім того, відомо, що нейрони дорсальних гангліїв спинного мозку пов'язані з пуринорецепторами P2X і P2Y [26]. Вони чутливі до екзо- та ендогенного АТФ. P2X₃-рецептори експресуються також на малих (ноцицептивних) сенсорних нейронах. При надходженні до них АТФ, особливо екзогенного, з пошкоджених тканин, ці рецептори також генерують больовий сигнал.

Механізми, через які ванілоїди можуть провокувати виділення нейротрансмітерів

не зовсім зрозумілі. Деякі автори [32] висунули припущення, що, можливо, капсаїцин сприяє виділенню нейротрансмітерів двома механізмами – через тетродотоксин-резистентні струми та через N-тип кальцієвих каналів. Однак станні спостереження про те, що капсаїцин вимагає спустошення IP₃-депо або діє через якийсь невідомий фактор, ускладнюють таке припущення [48]. Нарешті Sluka [45] показав, що активація потенціалкерованих кальцієвих каналів (високопорогових) також відіграє роль у виникненні вторинної гіперальгезії та алодонії при інтердермальному введенні капсаїцину.

Введення великих доз капсаїцину може сприяти анальгезії, що пов'язують з нейротоксичністю ванілоїдів. Не виключено, що великий вхід Ca²⁺, зумовлений капсаїцином (можливо компенсаторний) може призводити до смерті клітини або ж до інактивації рецепторів, пов'язаних з ванілоїдами. Ще немає відповіді на питанням чи достатньо кальцію надходить у клітину за допомогою капсаїцину через канали транзитного рецепторного потенціалу V1 у дорослих щурів, щоб відразу викликати загибель нейронів. У людей таке введення провокує дегенерацію та деіннервацію тієї ділянки, де підшкірно було введено капсаїцин. Крім того, слід зазначити, що капсаїцин може викликати пригнічення дихання, тобто гіпоксію, що також може ушкоджувати тканини [6].

Отже, в огляді розглянуто механізми функціонування та регуляції депокерованих каналів та їх зв'язок з різними внутрішньоклітинними кальційрегулювальними структурами. Детально розглядаються функції EP – як ріанодин-, так і IP₃-чутливого. Показано їх можливий взаємозв'язок з мітохондріями та потенціалкерованими каналами. Велику увагу сконцентровано на депокерованих каналах, що активуються саме спустошенням EP і, відповідно, на компенсаторному вході кальцію

на фоні незначного підвищення концентрації внутрішньоклітинного кальцію. Обговорюються молекулярні характеристики цієї групи каналів та їх взаємозв'язок з компенсаторним входом кальцію. Розглянуто можливі “кандидати” на роль депокерованих каналів. Це канали транзиторного рецепторного потенціалу. Також зосереджено увагу на TRPV1-каналах цієї групи, оскільки вони беруть участь у проведенні ноцицептивних сигналів. Такі депокеровані канали – важливі компоненти у системі передачі сенсорної інформації як у збудливих, так і в незбудливих клітинах. В останні роки дослідженню цієї проблеми приділяється особливо багато уваги.

O.P.Kostyuk

INTRACELLULAR DETERMINANTS OF CALCIUM SIGNALS

The review describes the mechanisms of function and regulation of store-operated (so called SOC) channels and their connections with different intracellular calcium regulating structures. The function of both ryanodine sensitive and inositol-1,3-phosphate sensitive endoplasmic reticulum are presented. The mechanisms of their connections with mitochondria and potential-activated channels are shown. Main attention is concentrated on compensatory calcium entry (CCE) connected with depletion of endoplasmic reticulum, the role of different transient receptor potential (TRP) channels in this process and possible mechanisms of their activation.

O.O.Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Acs G., Lee J., Marquez V.E. et al. Resiniferatoxinamide and analogues as ligands for protein kinase C and vanilloid receptors and determination of their biological activities as vanilloids // *J.Neurochem.* – 1995. – **65**. – P. 301–318.
2. Ambudkar I.S. Ca^{2+} signaling microdomains: platforms for the assembly and regulation of TRPC channels // *Trends Pharmacol.Sci.* – 2006. – **27**. – P. 25–32.
3. Bakowski D., Parekh A.B. Voltage-dependent conductance changes in the store-operated Ca^{2+} current ICRAC in rat basophilic leukaemia cells // *J.Physiol.* – 2000. – **529**, Pt 2. – P. 295–306.
4. Barritt G.J. Does a decrease in subplasmalemmal Ca^{2+} explain how store-operated Ca^{2+} channels are opened? // *Cell Calcium* – 1998. – **23**. – P. 65–75.
5. Berridge M.J. Capacitative calcium entry // *Biochem.J.* – 1995. – **312**, Pt 1. – P. 1–11.
6. Bian X., Hughes F.M., Huang Y. et al. Roles of cytoplasmic Ca^{2+} and intracellular Ca^{2+} stores in induction and suppression of apoptosis in S49 cells // *Amer.J. Physiol.* – 1997. – **272**. – P. 1241–1249.
7. Braun A.P., Schulman H. A non-selective cation current activated via the multifunctional $Ca(2+)$ -calmodulin-dependent protein kinase in human epithelial cells // *J.Physiol.* – 1995. – **488**, Pt 1. – P. 37–55.
8. Clapham D.E. TRP channels as cellular sensors // *Nature.* – 2003. – **426**. – P. 517–524.
9. Cohen R.A., Weisbrod R.M., Gericke M. et al. Mechanism of nitric oxide-induced vasodilatation: refilling of intracellular stores by sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase and inhibition of store-operated Ca^{2+} influx // *Circulat.Res.* – 1999. – **84**. – P. 210–219.
10. den Dekker E., Hoenderop J.G., Nilius B., Bindels R.J. The epithelial calcium channels, TRPV5 and TRPV6: from identification towards regulation // *Cell Calcium.* – 2003. – **33**. – P. 497–507.
11. Dougherty P.M., Palecek J., Paleckova V. The role of NMDA and non-NMDA excitatory amino acid receptors in the excitation of primate spinothalamic tract neurons by mechanical, chemical, thermal, and electrical stimuli // *J.Neurosci.* – 1992. – **12**. – P. 3025–3041.
12. Dubois J.M. Capsaicin blocks one class of K^{+} -channels in the frog node of Ranvier // *Brain Res.* – 1982. – **245**. – P. 372–375.
13. Fierro L., Parekh A.B. Fast calcium-dependent inactivation of calcium release-activated calcium current (CRAC) in RBL-1 cells // *J.Membr.Biol.* – 1999. – **168**. – P. 9–17.
14. Fierro L., Parekh A.B. On the characterisation of the mechanism underlying passive activation of the Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} current ICRAC in rat basophilic leukaemia cells // *J.Physiol.* – 1999. – **520**, Pt 2. – P. 407–416.
15. Forbes C. A., Bevan S.J. Properties of single capsaicin-activated channels // *Soc. Neurosci. Abstracts.* – 1988. – **14**. – P.140.
16. Fox A.J., Urban L., Barnes P.J., Dray A. Effects of capsazepine against capsaicin- and proton-evoked excitation of single airway C-fibres and vagus nerve from the guinea-pig // *Neuroscience.* – 1995. – **67**. – P. 741–752.
17. Garcia-Hirschfeld J., Lopez-Briones L.G., Belmonte C., Valdeolmillos M. Intracellular free calcium responses to protons and capsaicin in cultured trigeminal neurons // *Ibid* – 1995. – **67**. – P. 235–243.
18. Gilibert J.A., Parekh A.B. Respiring mitochondria determine the pattern of activation and inactivation of the store-operated $Ca(2+)$ current I(CRAC) // *EMBO J.* – 2000. – **19**. – P. 6401–6407.
19. Gill D.L., Patterson R.L. Toward a consensus on the operation of receptor-induced calcium entry signals //

- Sci.STKE. – 2004. – **2004**. – P. 39.
20. Hao J.X., Yu W., Xu X.J., Wiesenfeld–Hallin Z. Capsaicin-sensitive afferents mediate chronic cold, but not mechanical, allodynia-like behavior in spinally injured rats // *Brain Res.* – 1996. – **722**. – P. 177–180.
 21. Hardie R.C., Minke B. Novel Ca²⁺ channels underlying transduction in Drosophila photoreceptors: implications for phosphoinositide-mediated Ca²⁺ mobilization // *Trends Neurosci.* – 1993. – **16**. – P. 371–376.
 22. Helliwell R.J., McLatchie L.M. et al. Capsaicin sensitivity is associated with the expression of the vanilloid (capsaicin) receptor (VR1) mRNA in adult rat sensory ganglia // *Neurosci.Lett.* – 1998. – **250**. – P. 177–180.
 23. Hofmann T., Obukhov A.G., Schaefer M. et al. Direct activation of human TRPC6 and TRPC3 channels by diacylglycerol // *Nature.* – 1999. – **397**. – P. 259–263.
 24. Koplas P.A., Rosenberg R.L., Oxford G.S. The role of calcium in the desensitization of capsaicin responses in rat dorsal root ganglion neurons // *J.Neurosci.* – 1997. – **17**. – P. 3525–3537.
 25. Kozak J.A., Kerschbaum H.H., Cahalan M.D. Distinct properties of CRAC and MIC channels in RBL cells // *J.Gen.Physiol.* – 2002. – **120**. – P. 221–235.
 26. Lewis C., Neidhart S., Holy C. et al. Coexpression of P2X2 and P2X3 receptor subunits can account for ATP-gated currents in sensory neurons // *Nature.* – 1995. – **377**. – P. 432–435.
 27. Liu H., Wang H., Sheng M. et al. Evidence for presynaptic N-methyl-D-aspartate autoreceptors in the spinal cord dorsal horn // *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* – 1994. – **91**. – P. 8383–8387.
 28. Liu L., Simon S.A. A rapid capsaicin-activated current in rat trigeminal ganglion neurons // *Ibid.* – 1994. – **91**. – P. 738–741.
 29. Liu L., Simon S.A. Capsaicin-induced currents with distinct desensitization and Ca²⁺ dependence in rat trigeminal ganglion cells // *J.Neurophysiol.* – 1996. – **75**. – P. 1503–1514.
 30. Liu L., Simon S.A. Similarities and differences in the currents activated by capsaicin, piperine, and zingerone in rat trigeminal ganglion cells // *Ibid.* – 1996. – **76**. – P. 1858–1869.
 31. Machaca K. Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase II potentiates store-operated Ca²⁺ current // *J.Biol.Chem.* – 2003. – **278**. – P. 33730–33737.
 32. Maggi C.A., Bevan S., Walpole C.S. et al. A comparison of capsazepine and ruthenium red as capsaicin antagonists in the rat isolated urinary bladder and vas deferens // *Brit.J.Pharmacol.* – 1993. – **108**. – P. 801–805.
 33. Minke B., Cook B. TRP channel proteins and signal transduction // *Physiol Rev.* – 2002. – **82**. – P. 429–472.
 34. Montell C., Birnbaumer L., Flockerzi V. The TRP channels, a remarkably functional family // *Cell.* – 2002. – **108**. – P. 595–598.
 35. Nagy I., Santha P., Jancso G., Urban L. The role of the vanilloid (capsaicin) receptor (TRPV1) in physiology and pathology // *Eur.J.Pharmacol.* – 2004. – **500**. – P. 351–369.
 36. Parekh A.B., Penner R. Store depletion and calcium influx // *Physiol Rev.* – 1997. – **77**. – P. 901–930.
 37. Parekh A.B., Putney J.W., Jr. Store-operated calcium channels // *Ibid.* – 2005. – **85**. – P. 757–810.
 38. Patterson R.L., van Rossum D.B., Gill D.L. Store-operated Ca²⁺ entry: evidence for a secretion-like coupling model // *Cell.* – 1999. – **98**. – P. 487–499.
 39. Prakriya M., Lewis R.S. Separation and characterization of currents through store-operated CRAC channels and Mg²⁺-inhibited cation (MIC) channels // *J.Gen.Physiol.* – 2002. – **119**. – P. 487–507.
 40. Prakriya M., Lewis R.S. CRAC channels: activation, permeation, and the search for a molecular identity // *Cell Calcium.* – 2003. – **33**. – P. 311–321.
 41. Putney J.W., Jr. TRP, inositol 1,4,5-trisphosphate receptors, and capacitative calcium entry // *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* – 1999. – **96**. – P. 14669–14671.
 42. Putney J.W. Capacitative calcium entry in the nervous system // *Cell Calcium.* – 2003. – **34**. – P. 339–344.
 43. Randriamampita C., Tsien R.Y. Degradation of a calcium influx factor (CIF) can be blocked by phosphatase inhibitors or chelation of Ca²⁺ // *J.Biol.Chem.* – 1995. – **270**. – P. 29–32.
 44. Rychkov G., Brereton H.M., Harland M.L., Barritt G.J. Plasma membrane Ca²⁺ release-activated Ca²⁺ channels with a high selectivity for Ca²⁺ identified by patch-clamp recording in rat liver cells // *Hepatology.* – 2001. – **33**. – P. 938–947.
 45. Sluka K.A. Blockade of calcium channels can prevent the onset of secondary hyperalgesia and allodynia induced by intradermal injection of capsaicin in rats // *Pain.* – 1997. – **71**. – P. 157–164.
 46. Smani T., Zakharov S.I., Csutora P. et al. A novel mechanism for the store-operated calcium influx pathway // *Nat.Cell Biol.* – 2004. – **6**. – P. 113–120.
 47. Szallasi A. Vanilloid receptor ligands: hopes and realities for the future // *Drugs Aging.* – 2001. – **18**. – P. 561–573.
 48. Szallasi A. Vanilloid (capsaicin) receptors in health and disease // *Amer.J.Clin.Pathol.* – 2002. – **118**. – P. 110–121.
 49. Tornquist K. Modulatory effect of protein kinase C on thapsigargin-induced calcium entry in thyroid FRTL-5 cells // *Biochem.J.* – 1993. – **290**, Pt 2. – P. 443–447.
 50. Vaca L., Sampieri A. Calmodulin modulates the delay period between release of calcium from internal stores and activation of calcium influx via endogenous TRP1 channels // *J.Biol.Chem.* – 2002. – **277**. – P. 42178–42187.
 51. Xu S.Z., Beech D.J. TrpC1 is a membrane-spanning subunit of store-operated Ca(2+) channels in native vascular smooth muscle cells // *Circulat.Res.* – 2001. – **88**. – P. 84–87.
 52. Yoo A.S., Cheng I., Chung S. et al. Presenilin-mediated modulation of capacitative calcium entry // *Neuron.* – 2000. – **27**. – P. 561–572.
 53. Zitt C., Zobel A., Obukhov A.G. et al. Cloning and

- functional expression of a human Ca^{2+} -permeable cation channel activated by calcium store depletion // *Ibid.* – 1996. – **16**. – P. 1189–1196.
54. Zweifach A., Lewis R.S. Rapid inactivation of depletion-activated calcium current (ICRAC) due to local calcium feedback // *J.Gen.Physiol.* – 1995. – **105**. – P. 209–226.
55. Zweifach A., Lewis R.S. Slow calcium-dependent inactivation of depletion-activated calcium current. Store-dependent and -independent mechanisms // *J.Biol.Chem.* – 1995. – **270**. – P. 14445–14451.
56. Zweifach A., Lewis R.S. Calcium-dependent potentiation of store-operated calcium channels in T lymphocytes // *J.Gen.Physiol.* – 1996. – **107**. – P. 597–610.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 23.04.2006*