

О.І. Бондаренко, В.Ф. Сагач

Інгібітор мітохондріального $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмінника CGP37157 деполяризує ендотеліальні клітини та викликає осциляції мембранного потенціалу

Досліджено вплив інгібіторів мітохондріального $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмінника CGP37157 та відкриття мітохондріальної пори циклоспорину А на мембранний потенціал та електричні реакції інтактних ендотеліальних клітин аорти щурів, а також культивованих ендотеліальних клітин лінії Ea.hy926. Циклоспорин А не змінював мембранний потенціал в умовах спокою, а також гіперполяризацію у відповідь на дію ацетилхоліну та гістаміну. Показано, що CGP37157 спричинює деполяризацію мембран нестимульованих ендотеліальних клітин, а також пригнічує пролонговану гіперполяризацію у відповідь на дію ацетилхоліну та гістаміну. За наявності CGP37157 за транзйентною гіперполяризацією спостерігається деполяризація з осциляціями мембранного потенціалу великої амплітуди. Остання не спостерігалась у безкальцієвому середовищі. Результати роботи вказують на модульовальний вплив CGP37157 на мембранний потенціал ендотеліальних клітин в умовах спокою і їх електричні реакції на ендотелійзалежні вазодилататори. Можливий механізм дії CGP37157 обговорюється.

Ключові слова: ендотеліальні клітини, мітохондріальний $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмінник CGP37157, електричні реакції.

ВСТУП

Підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) в ендотеліальних клітинах відіграє вирішальну роль у регуляції ендотелієм судинного тонуусу. Стійке підвищення $[\text{Ca}^{2+}]_i$ забезпечується завдяки надходженню Ca^{2+} ззовні через кальційпровідні канали, а також за специфічних умов $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмінником. Ємнісний кальцієвий вхід вважається одним з головних механізмів надходження Ca^{2+} через плазматичну мембрану незбудливих клітин. Ключовим сигнальним моментом його активації, як добре відомо, є вивільнення Ca^{2+} із ендоплазматичного ретикулума, що активує специфічні депокеровані канали, які можуть бути як високо-селективні для Ca^{2+} , так і такі, що здатні проводити інші катіони, насамперед Na^+ [2].

Незважаючи на те, що в ендотеліальних клітинах відсутні потенціалкервані каль-

цієві канали, які є головним шляхом надходження Ca^{2+} у збудливі клітини, зміни мембранного потенціалу мають велике значення у регуляції надходження Ca^{2+} в ендотелій, змінюючи електрохімічний градієнт для Ca^{2+} [13]. Відомо також, що надходження Ca^{2+} через депокеровані канали ефективно контролюється мембранним потенціалом. Так, під час ремпових зсувів мембранного потенціалу ендотеліальних клітин аорти мишей вхідний струм через депокеровані канали при потенціалі -25 мВ майже в 3 рази менший, ніж при потенціалі -75 мВ [9], і повністю зникає в ділянці позитивних значень. Тому дослідження модуляції мембранного потенціалу є дуже важливим для розуміння можливості та механізмів надходження Ca^{2+} в ендотелій через депокеровані канали за тих чи інших умов.

Протягом останніх років у літературі з'явилося чимало даних, які свідчать про

© О.І. Бондаренко, В.Ф. Сагач

те, що в регуляції внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостазу клітин активну участь беруть мітохондрії [7, 8, 11]. Ця їх роль забезпечується завдяки захопленню Ca^{2+} головним чином через мітохондріальний уніпортер, акумуляції, та його вивільненню з мітохондрій в основному через Na^+ - Ca^{2+} -обмінник, а за умов значного навантаження кальцієм – через мітохондріальну пору [4]. Важливо, що мітохондріальний Na^+ - Ca^{2+} -обмінник, як і плазмолемальний, може оперувати і як в прямому, так і реверсному напрямку, тобто транспортувати Ca^{2+} в мітохондрії.

Відомо, що головна функція мітохондрій – продукція АТФ – тісно пов'язана із підвищенням в них вмісту Ca^{2+} і, таким чином, з регуляцією внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостазу. Вважається, що під час активації депокерованого надходження Ca^{2+} в клітини мітохондрії попереджують кальційзалежну інактивацію кальційпровідних каналів завдяки захопленню Ca^{2+} в субплазмолемальній зоні і подальшому його вивільненню до ендоплазматичного ретикула [3, 10]. Для дослідження ролі мітохондрій у регуляції кальцієвого гомеостазу різних типів клітин, у тому числі ендотеліальних, інгібітори мітохондріального транспорту Ca^{2+} , в переважній більшості протонифори та інгібітори респіраторного ланцюга, досить широко застосовуються в кальциметричних експериментах [3, 4, 6, 10–12]. Проте в більшості досліджень вплив цих агентів на мембранний потенціал, який безпосередньо регулює надходження Ca^{2+} в ендотеліальні клітини не враховується. В попередній праці [1] ми показали, що агенти, котрі деполяризують мітохондрії і, таким чином, пригнічують захоплення Ca^{2+} мітохондріями, протонифор СССР та інгібітор комплексу I електронно-транспортного ланцюга ротенон пригнічують пролонговану гіперполяризацію ендотеліальних клітин ізольованої аорти щура у відповідь на ацетилхолін. Оскільки міто-

хондріальний Na^+ - Ca^{2+} -обмінник, а також мітохондріальна пора є головним шляхом вивільнення Ca^{2+} з мітохондрій, мета цієї роботи полягала у дослідженні впливу мембранопроникного інгібітора мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника CGP37157, а також блокатора мітохондріальної пори циклоспорину А на мембранний потенціал та електричні відповіді інтактних і культивованих ендотеліальних клітин.

МЕТОДИКА

Досліджували ендотеліальні клітини *in situ* аорти щурів віком 3–4 міс. Для відокремлення можливого впливу судинних гладеньком'язових клітин в ізольованих сегментах аорти на електричні реакції ендотеліальних клітин, частина експериментів була проведена на лінії клітин EA.hy926, які походять від ендотеліальних клітин пупкової артерії людини. Грудну частину аорти ізольовали, нарізали на сегменти довжиною 3–4 мм, їх розрізали вздовж і закріплювали в камері об'ємом близько 100 мкл, яку суперфузували розчином такого складу (ммоль/л): NaCl – 145, KCl – 5, MgCl_2 – 1,2, CaCl_2 – 2,5, глюкоза – 10, HEPES – 10 зі швидкістю 1 мл/хв. Мембранний потенціал реєстрували за допомогою методу patch-clamp у режимі фіксації струму та відводили безпосередньо від ендотеліального шару судинної смужки.

Лінію ендотеліальних клітин EA.hy926 вирощували у культуральному середовищі Ігла в модифікації Дюльбекко (DMEM) з додаванням 10 % телячої сироватки та 5 мг/л глюкози. Експерименти проводили через 2–3 доби після посадки клітин на покрівне скло у чашці Петрі на електрично зв'язаних ендотеліальних клітинах. Про наявність електричних зв'язків свідчили близькі контакти між клітинами, а також низький вхідний опір ($62 \text{ мОм} \pm 10 \text{ мОм}$, $n = 12$). В ізольованих клітинах цей показник становив декілька гігаом. Покрівне скло з

клітинами переносили в експериментальну камеру об'ємом близько 200 мкл, яку су-перфузували розчином, склад якого наведе-но вище.

Експерименти проводили при 22–24 °С. Patch-піпетки заповнювали таким розчином (ммоль/л): KCl – 140, NaCl – 10, HEPES – 10, до якого додавали ністатин (200–300 мкг/мл). Мембранний потенціал реєстрували за допомогою підсилювача Axopatch 200В («Molecular Devices», США).

В роботі застосовували реагенти: гістамін (10 мкмоль/л; «Sigma», США), ацетилхолін (2 мкмоль/л; «Sigma», США), CGP37157 (20 мкмоль/л; «Tocris», Великобританія), бутилбензогідроксін (BHQ), (10 мкмоль/л; «Sigma», США). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Microcal Origin.

РЕЗУЛЬТАТИ

Середнє значення мембранного потенціалу ендотеліальних клітин аорти щурів стано-вило – 42,6 мВ ± 2,1 мВ (n=5). Аплікація ацетилхоліну (2 мкмоль/л) викликала стійку гіперполяризацію мембран ендотеліальних клітин з амплітудою 21,4 мВ ± 2,7 мВ (n=5). Додавання у перфузуючий розчин 20 мкмоль/л CGP37157 під час фази плато гіперполяризації пригнічувало амплітуду гіперполяризації на 8,2 мВ ± 2,7 мВ (n=5; рис. 1).

Для вилучення можливого впливу судин-них гладеньком'язових клітин у мембранній

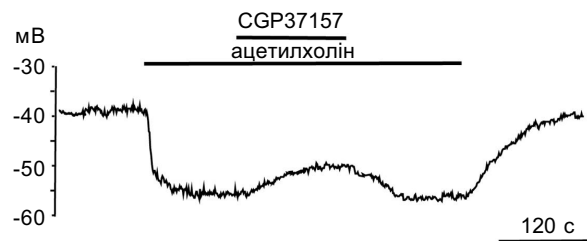


Рис. 1. Вплив інгібітора мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника CGP37157 на ацетилхолініндуковану гіперполяризацію клітин інтактного ендотелію аорти щурів

деполяризації клітин ендотелію у препараті ізольованої аорти було досліджено дію CGP37157 на мембранний потенціал та електричні відповіді культивованих ендотеліальних клітин. Дія CGP37157 призводила до деполяризації клітин з середньою амплітудою 6,3 мВ ± 2,4 мВ (n=6; рис. 2,а).

Оскільки вирощені в культурному сере-довищі ендотеліальні клітини не здатні генерувати електричні реакції у відповідь на дію ацетилхоліну [16], в експериментах на клітинах лінії Ea.hy926 як ендотелій-залежний агоніст застосовувався гістамін. Додавання у розчин 10 мкмоль/л гістаміну на 6–8-й хвилині дії CGP37157 призводило

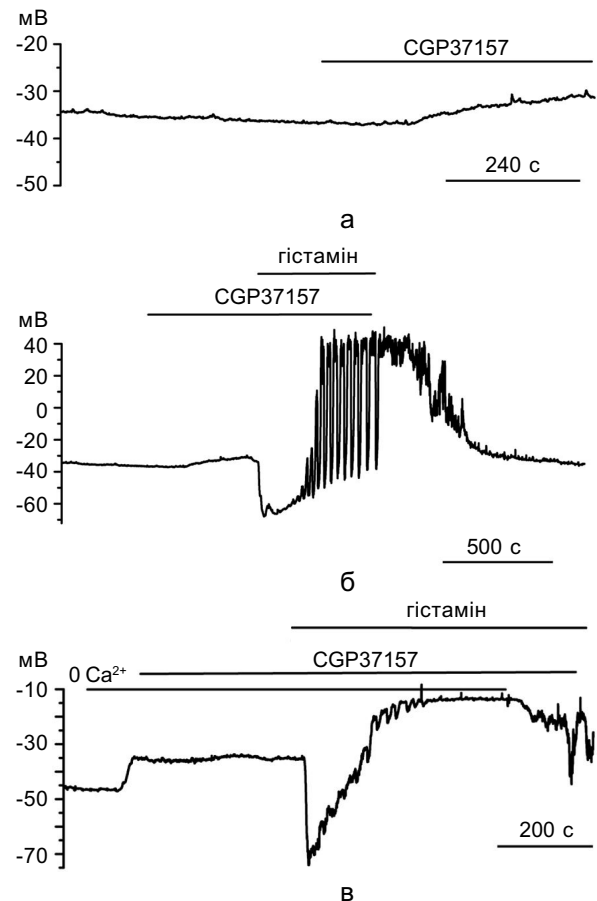


Рис. 2. Залежність впливу інгібітора мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника CGP37157 на мембранний потенціал і перебіг гістамініндукованої гіперполяризації культивованих ендотеліальних клітин від зовнішньоклітинного кальцію: а – CGP37157, б – CGP37157 і гістамін, в – GP37157 і гістамін у безкальцієвому середовищі

до транзійтної гіперполяризації мембрани ендотеліальних клітин, за якою спостерігалася деполаризація, і мембранний потенціал навіть сягав позитивних значень (у 4 з 7 відведень). На висхідній фазі деполаризації виникали осциляції мембранного потенціалу, амплітуда яких сягала 20–80 мВ (див. рис. 2,б). Відмивання гістаміну та CGP37157 припинювало осциляції і повертало значення мембранного потенціалу до початкового рівня.

Для дослідження залежності осциляцій від зовнішньоклітинного Ca^{2+} , наступна серія експериментів була проведена у безкальцієвому розчині. Суперфузія клітин таким розчином (з додаванням 1 ммоль/л EGTA) призводила до деполаризації ендотеліальних клітин, амплітуда якої становила $11,6 \text{ мВ} \pm 2,3 \text{ мВ}$ ($n=5$). Додавання CGP37157 за таких умов не спричинювало подальшої деполаризації мембрани ендотеліальних клітин. Наступне додавання гістаміну за наявності CGP37157 викликало транзійтну гіперполяризацію, що переходила у деполаризацію, проте не таку потужну, як за наявності зовнішньоклітинного Ca^{2+} . Більше того, у безкальцієвому розчині осциляції мембранного потенціалу за наявності CGP37157 і гістаміну були відсутні, що вказує на кальційзалежність деполаризації та осциляцій (див. рис. 2,в). Подальше додавання Ca^{2+} не призводило до швидкої гіперполяризації ендотеліальних клітин ($n=4$), тоді як у контрольних експериментах (без блокатора мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника в розчині) спостерігалася потужна і швидка гіперполяризація, що віддзеркалює надходження Ca^{2+} в ендотелій.

Надалі CGP37157 додавали під час фази плато гістамініндукованої мембранної гіперполяризації культивованих ендотеліальних клітин. Це призводило, як і в експериментах на інтактних смужках аорти, до суттєвого пригнічення гіперполяризації, причому ступінь такого пригнічен-

ня в різних експериментах варіював від часткового, амплітудою близько 10 мВ (~30% пригнічення, $n=4$) до повного ($n=3$, рис. 3,а,б). Пригнічення гіперполяризації могло переходити у потужну деполаризацію ($n=5$), яка також супроводжувалась осциляціями мембранного потенціалу (див. рис. 3,в). Цей ефект був зворотним і відмив CGP37157 відновлював подальший перебіг гіперполяризації.

Оскільки наведені вище результати свідчать про те, що блокатор мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника CGP37157 за наявності гістаміну і Ca^{2+} здатний генерувати потужну деполаризацію мембрани ендотеліальних клітин з осциляціями мембранного потенціалу великої амплітуди,

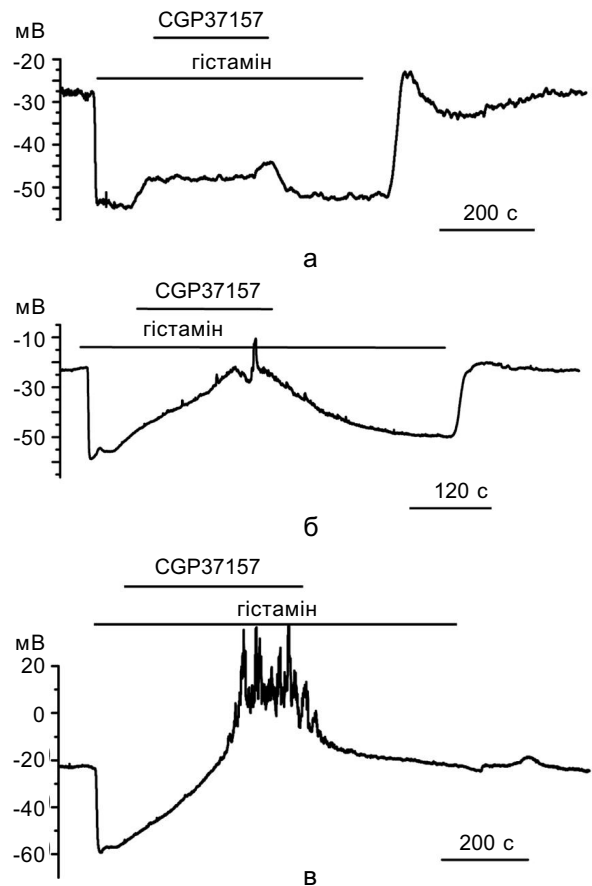


Рис. 3. CGP37157 пригнічує гістамініндуковану гіперполяризацію (а, б – частково та повністю відповідно) та викликає осциляції мембранного потенціалу (в) при даванні під час фази плато

в наступних експериментах для виявлення, чи цей ефект специфічний для гістаміну, замість нього застосовували блокатор Ca^{2+} -АТФази ендоплазматичного ретикула ВНҚ. Додавання у сеферфузуючий розчин CGP37157 за наявності ВНҚ ефективно пригнічувало гіперполяризацію (рис. 4) і призводило до потужної деполяризації з осциляціями мембранного потенціалу.

В експериментах з дослідження ролі мітохондріальної пори в модуляції електричних реакцій ендотеліальних клітин показано наступне. Блокатор мітохондріальної пори циклоспорин А (1 мкмоль/л) не змінював мембранний потенціал інтактних ендотеліальних клітин аорти щурів ($n=6$), а також культивованих ендотеліальних клітин в умовах спокою ($n=4$). Додавання циклоспорину не впливало на перебіг гіперполяризації інтактних ендотеліальних клітин у відповідь на дію ацетилхоліну ($n=4$), а також культиваних ендотеліальних клітин у відповідь на дію гістаміну ($n=4$).

ОБГОВОРЕННЯ

У роботі досліджено вплив селективних інгібіторів мітохондріального $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмінника CGP37157 і мітохондріальної пори циклоспорину А на мембранний потенціал та електричні відповіді культиваних та інтактних ендотеліальних клітин *in situ* під час дії ендотелійзалежних вазодилаторів гістаміну та ацетилхоліну.

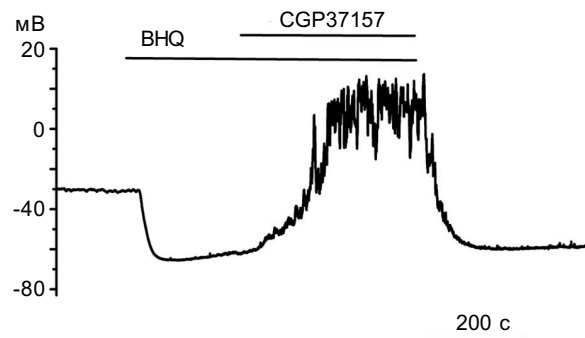


Рис. 4. Вплив CGP37157 на гіперполяризацію ендотеліальних клітин, викликану пригніченням Ca^{2+} -АТФази ендоплазматичного ретикула бутілбензогідрохіноном (ВНҚ)

вованих та інтактних ендотеліальних клітин *in situ* під час дії ендотелійзалежних вазодилаторів гістаміну та ацетилхоліну. Циклоспорин А не впливав на мембранний потенціал, в той час як CGP3718 викликав деполяризацію ендотеліальних клітин. Вилучення Ca^{2+} з зовнішньоклітинного розчину мало деполяризувальний ефект, проте CGP37157-індукована деполяризація не спостерігалась у безкальцієвому середовищі. Оскільки одним із механізмів деполяризації мембрани ендотеліальних клітин у безкальцієвому середовищі може бути пригнічення базального надходження кальцію в ендотелій і, як наслідок, пригнічення базальної активності кальційзалежних калієвих каналів, кальційзалежна деполяризація мембрани ендотеліальних клітин під впливом CGP37157, що спостерігалась під час експериментів, може свідчити про пригнічення базального надходження Ca^{2+} в ендотеліоцити. Чи є такий ефект неспецифічною дією CGP37157 або наслідком пригнічення мітохондріального $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмінника, який за нормальних умов вивільнює Ca^{2+} з мітохондрій [5], наразі невідомо. Даних літератури щодо безпосереднього CGP37157-індукованого пригнічення надходження Ca^{2+} в клітини ендотелію в умовах спокою немає.

Якщо така деполяризація плазмолемі під впливом цього інгібітора є наслідком селективного пригнічення мітохондріального $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмінника, то деполяризувальний ефект CGP37157 можна пояснити тим, що частина мітохондрій, котра знаходиться в безпосередній близькості до плазмолемі, вивільнює Ca^{2+} в її напрямку, підвищуючи локальну концентрацію Ca^{2+} . Це призводить до підвищення базальної активності кальційзалежних калієвих каналів, що сприяє надходженню Ca^{2+} в ендотелій за електрохімічним градієнтом. Блокування за таким сценарієм трансмітохондріального переміщення Ca^{2+} за допо-

могою CGP37157 спричинює зменшення базального надходження Ca^{2+} в ендотелій, що проявляється в деполяризації клітин і відсутності ефекту CGP37157 у безкальцієвому розчині.

Також показано, що CGP37118 ефективно пригнічує гіперполяризацію ендотеліальних клітин, викликану дією різних за хімічною структурою ендотеліалезалежних дилататорів: ацетилхоліном та гістаміном. Це вказує на те, що ефект CGP37118 не є специфічним для стимуляції гістамінових чи мускаринових рецепторів. Оскільки стимуляція обох типів рецепторів призводить до підвищення внутрішньоклітинного вмісту інозитолтрифосфату (IP_3) застосовувався також інгібітор Ca^{2+} -АТФази ендоплазматичного ретикулума ВНQ, додавання якого спричинювало пасивне, IP_3 -незалежне вивільнення Ca^{2+} .

Пригнічувальний ефект CGP37157 на мембранну гіперполяризацію спостерігався як в експериментах на інтактному ендотелії ізольованих смужок аорти, так і на культивованих ендотеліальних клітинах. Це свідчить про те, що такий ефект не пов'язаний із дією такого агента на гладеньком'язові клітини. Очевидно, пригнічення гіперполяризації ендотеліальних клітин під впливом CGP37157 віддзеркалює пригнічення надходження Ca^{2+} в ендотеліоцити.

Досить несподіваним виявилось спостереження, що додавання CGP37157 у розчин під час фази плато гіперполяризації чи перед додаванням гістаміну призводило не тільки до пригнічення гіперполяризації, але й до генерації потужної деполяризації з осциляціями мембранного потенціалу досить великої амплітуди. Хоча цей феномен нелегко пояснити, є очевидним, що такі осциляції мембранного потенціалу можуть віддзеркалювати зміни $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Для міркувань щодо можливого механізму такої потужної деполяризації слід нагадати, що мітохондрії безпосередньо контактують з ендоплазматичним ретикуломом і, з одного

боку, забезпечують його кальцієм, а з іншого – захоплюють Ca^{2+} , що вивільнюється з нього під час стимуляції IP_3 -чутливих рецепторів чи пригнічення Ca^{2+} -АТФази ретикулума. Блокування мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника порушує цей процес, і мітохондрії більш не здатні захоплювати Ca^{2+} , що вивільнюється з ендоплазматичного ретикулума. Це, очевидно, призводить до значного підвищення локальної концентрації Ca^{2+} внаслідок його вивільнення і мембранної деполяризації з осциляціями мембранного потенціалу, які можуть віддзеркалювати осциляторний патерн вивільнення Ca^{2+} з депо. Як відомо, при значному (10 мкмоль/л і вище) підвищенні вмісту Ca^{2+} активність кальційзалежних калієвих каналів великої провідності пригнічується [15], що супроводжується тривалими інтервалами неактивності, тому масивне вивільнення Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулума за умов нездатності мітохондрій захоплювати Ca^{2+} може призводити до деполяризації мембрани клітин внаслідок накопичення позитивного заряду. Очевидно, цим можна пояснити деполяризацію мембрани клітин ендотелію під час дії гістаміну за умов блокування мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника.

Результати роботи переконливо свідчать про регуляторну роль мітохондрій у регуляції базального та стимульованого надходження кальцію в ендотелій і вперше демонструють комплексний вплив інгібітора мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника CGP37157 на електричні властивості ендотеліальних клітин, а також відсутність ефекту блокади мітохондріальної пори циклоспорином А на електричні реакції ендотеліальних клітин. Останнє, очевидно, пояснюється тим, що мітохондріальна пора, на відміну від мітохондріального Na^+ - Ca^{2+} -обмінника, не бере участі в регуляції вмісту субплазмолемального Ca^{2+} ендотеліальних клітин під час дії вазодилататорів ацетилхоліну та гістаміну.

А.И. Бондаренко, В.Ф. Сагач

**ИНГИБИТОР МИТОХОНДРИАЛЬНОГО
NA⁺-CA²⁺-ОБМЕННИКА CGP37157
ДЕПОЛЯРИЗИРУЕТ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ
КЛЕТКИ И ВЫЗЫВАЕТ ОСЦИЛЛЯЦИИ
МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА**

Исследовано влияние ингибиторов митохондриального Na⁺-Ca²⁺-обменника CGP37157 и открытия митохондриальной поры циклоспорина А на мембранный потенциал и электрические реакции интактных эндотелиальных клеток аорты крысы, а также культивируемых эндотелиальных клеток линии Ea.hy926. Циклоспорин А не изменял мембранный потенциал в условиях покоя и гиперполяризацию при действии ацетилхолина и гистамина. Показано, что CGP37157 вызывает деполаризацию мембран нестимулированных эндотелиальных клеток, а также угнетает пролонгированную гиперполяризацию в ответ на действие ацетилхолина и гистамина. В присутствии CGP37157 за транзистентной гиперполяризацией следовала деполаризация, на восходящей фазе которой наблюдались осцилляции мембранного потенциала большой амплитуды, отсутствовавшие в бескальциевой среде. Результаты работы свидетельствуют о модулирующем влиянии CGP37157 на мембранный потенциал и электрические реакции эндотелиальных клеток. Возможный механизм действия CGP37157 обсуждается.

Ключевые слова: эндотелиальные клетки, митохондриальный Na⁺-Ca²⁺-обменник CGP37157, электрические реакции.

A.I. Bondarenko, V.F. Sagach

**AN INHIBITOR OF MITOCHONDRIAL
NA⁺-CA²⁺-EXCHANGER CGP37157
PRODUCES ENDOTHELIAL CELL
DEPOLARIZATION WITH MEMBRANE
POTENTIAL OSCILLATIONS**

We explored the effect of inhibitor of mitochondrial Na⁺-Ca²⁺-exchanger CGP37157 and the effect of mitochondria permeability transition pore inhibitor, cyclosporine A, on the membrane potential and electrical responses to endothelium-dependent dilators in intact endothelial cells from excised rat aorta and EA.hy 926 endothelial cells. Cyclosporin A did not affect the resting membrane potential and hyperpolarization to acetylcholine and histamine in intact and cultured cells. In contrast, CGP37157 (20 μM) evoked membrane depolarization in unstimulated cells and suppressed the sustained component of hyperpolarization to acetylcholine and histamine both in intact and cultured endothelial cells, respectively. This was accompanied by a pronounced depolarization with membrane potential oscillations, which were not observed in the absence of Ca²⁺. We conclude that CGP37157 modulates endothelial membrane potential at rest and electrical responses to endothelium-dependent dilators. Possible mechanisms ac-

companying the CGP37157 action are discussed.

Key words: endothelial cells, mitochondrial Na⁺-Ca²⁺-exchanger, CGP37157, electrical responses.

O.O.Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко О.И., Сагач В.Ф. Участь мітохондрій в регуляції мембранної гіперполяризації ендотеліальних клітин при дії ацетилхоліну // Фізіол. журн. – 2006 – **52**, № 5. – P.6–11.
2. Albert A.P. Large W.A. Store-operated Ca²⁺ permeable non-selective cation channels in smooth muscle cells // Cell Calcium. – 2003. – **33**. – P.345–356.
3. Arnaudeau S., Kelley W.L., Jr Walsh J.V., Demareux N., Mitochondria recycle Ca²⁺ to the endoplasmic reticulum and prevent the depletion of neighboring endoplasmic reticulum regions // J. Biol.Chem. –2001. – **276**. – P.29430–29439.
4. Barbock D.F., Herrington J., Park Y-B., Hille B (1997). Mitochondria participation in the intracellular Ca²⁺ network // J. Cell Biol. – **136**. – P.833–843.
5. Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers and permeability transition // Physiol. Rev. – 1999. – **79**. – P.1127–1155.
6. Caputo C., Bolanos P. Effect of mitochondria poisoning by FCCP on Ca²⁺ signaling in mouse skeletal muscle fibers // Pflug. Arch. – 2008. – **455**(4). – P.733–43.
7. Davidson. Duchon Endothelial mitochondria. Contributing to vascular function and disease // Circulst. Res. – 2007. – **100**. – P.1128–1141.
8. Duszynski J., Koziel R., Brutkowski W., Szczepanowska J., Zablocki. The regulatory role of mitochondria in capacitative calcium entry // Biochim et Biophys Acta. – 2006. – **1757**. – P.380–387.
9. Freichel M., Suh S.H., Pfeifer A., Schweig U. Lack of an endothelial store-operated Ca²⁺ current impairs agonist-dependent vasorelaxation in TRP4-/-mice // Nature Cell Biol. – 2001. – **3**. – P.121–127.
10. Malli R., Frieden M., Osibow K., Zoratti C., Mayer M., Demareux N., Graier W. F. Sustained Ca²⁺ transfer across mitochondria is Essential for mitochondrial Ca²⁺ buffering, store-operated Ca²⁺ entry, and Ca²⁺ store refilling // J. Biol Chem. – 2003. – **278**. – P.44769–44779.
11. Malli R., Frieden M., Trenker M., Graier W. F. The role of mitochondria for Ca²⁺ refilling of the endoplasmic reticulum // Ibid. – 2005. – **280**. – 12114–12122.
12. Maruyama K, Ohta T, Ito S. Involvement of mitochondrial Na⁺-Ca²⁺ exchange in intracellular Ca²⁺ increase induced by ATP in PC12 cells // Brain Res. – 2004. – **1013**(1). – P.40–50.
13. Niluis B., Droogmans G. Ion channels and their functional role in vascular endothelium // Physiol. Rev. – 2001. – **81**. – P.415–459.

14. Putney J.W., Broad L.M., Braun F. – J. Mechanisms of capacitative calcium entry // J. Cell. Sci. – 2001. – **114**. – P.2223–2229.
15. Rothberg B. S., Bello R. A., Song L., Magleby K. L. High Ca^{2+} concentrations induce a low activity mode and reveal Ca^{2+} -independent long shut intervals in BK channels from rat muscle // J.Physiol. – 1996. – **493** (Pt 3). – 673–689.
16. Tracey W.R., Peach M.J. Differential muscarinic receptor mRNA expression by freshly isolated and cultured bovine endothelial cells // Circulat Res. – 1992. – **70**. – 234–240.

Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
E-mail: abond01@biph.kiev.ua

Матеріал надійшов до редакції 01.11.2009