

## Шляхи та механізми трансмембранного обміну $\text{Ca}^{2+}$ в мітохондріях

О.В. Коломієць, Ю.В. Данилович, Г.В. Данилович, С.О. Костерін

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ; e-mail: danylovych@biochem.kiev.ua

*В огляді проаналізовано літературні дані щодо систем транспорту іонів Са в мітохондріях та подано окремі власні результати експериментів, проведених на гладенькому м'язі матки (міометрії). Зокрема, описано системи мітохондріального  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера, «швидкого кальцієвого входу», мітохондріального ріанодинового рецептора,  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ - та  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінників, мітохондріальної пори перехідної проникності. Розглянуто можливу функціональну роль іонів кальцію в мітохондріях та їх значення у підтриманні  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу клітин. Обговорюються особливості трансмембранного обміну  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях за різноманітних патологій.*

*Ключові слова: мітохондрії;  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер; «швидкий кальцієвий вхід»; мітохондріальний ріанодиновий рецептор;  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник;  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник; мітохондріальна пора перехідної проникності; гладенькі м'язи; міометрій.*

### ВСТУП

$\text{Ca}^{2+}$  є універсальним вторинним месенджером та регуляторним катіоном, який зумовлює широкий спектр клітинних реакцій еукаріотів. Іони Са відіграють фундаментальну роль у забезпеченні скорочення гладеньких м'язів, оскільки зміна внутрішньоклітинної їх концентрації є ключовою ланкою електро- та фармакомеханічного спряження між збудженням та скороченням. Динаміка  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналіngu контролюється такими численними субклітинними системами, як  $\text{Ca}^{2+}$ -канали, помпи та обмінники, які забезпечують транспорт катіона крізь плазмалему та мембрани внутрішньоклітинних компартментів, що виконують функцію депо  $\text{Ca}^{2+}$ , а саме ендоплазматичного ретикулуму та мітохондрій [1, 2]. Мітохондрії відіграють провідну роль у процесах  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналізації внаслідок їхньої здатності накопичувати та вивільняти значні кількості іонів Са. Завдяки ефективній їх акумуляції, особливо в місцях контакту

ендоплазматичного ретикулума/плазматичної мембрани та мітохондрій, де локальна концентрація катіона може сягати десятків і навіть сотень мікромоль на 1 л, останні можуть модулювати  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнал, зокрема його амплітуду та часові характеристики [1, 3-8].

Спроможність мітохондрій накопичувати  $\text{Ca}^{2+}$  є визначальною для функціонування клітини в цілому, оскільки продукція ними АТФ залежить від концентрації даного катіона в матриксі, що зумовлено специфікою роботи відповідних дегідрогеназ; разом з цим  $\text{Ca}^{2+}$ -перевантаження мітохондрій є тригером відкриття пори перехідної проникності і розвитку апоптозу [1, 9].

Отже, для нормальної життєдіяльності клітини необхідною є узгоджена робота мітохондріальних  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальних систем, які підтримують оптимальну концентрацію іонів Са в матриксі та беруть участь в контролі  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу міоцитів. Цим питанням, з акцентом на відповідні протеїни,

© О.В. Коломієць, Ю.В. Данилович, Г.В. Данилович, С.О. Костерін

які експресовано саме в мітохондріях клітин гладеньких м'язів, зокрема матки – об'єкту дослідницької діяльності авторів, і присвячена оглядова стаття.

### 1. Мітохондрії як внутрішньоклітинне депо $\text{Ca}^{2+}$

Нині сформовано уявлення про значення мітохондрій як  $\text{Ca}^{2+}$ -депо в електрозбудливих клітинах. У 1961 р. DeLuca та Engstrom показали, що мітохондрії можуть акумулювати іони  $\text{Ca}$  [10], а в 1963 р. Lehninger і співавтори довели, що ці органели здатні накопичувати на кілька порядків більше  $\text{Ca}^{2+}$ , ніж його початковий вміст у матриксі. Автори припустили, що мітохондрії діють як  $\text{Ca}^{2+}$ -депо за умови перевантаження клітини катіоном [11]. У 1965 р. Sarafoli із співавторами було показано, що акумуляція  $\text{Ca}^{2+}$  та неорганічного фосфату мітохондріями супроводжується накопиченням ними АТФ [12].

Після транзйентного підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в клітинах у разі їх збудження, в тому числі і гладеньком'язових, частина іонів  $\text{Ca}$  акумулюється мітохондріями. Після повернення  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  (концентрація іонізованого  $\text{Ca}$  у цитозолі) до базального рівня органели починають звільняти  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазму [1, 3-5]. Розраховано, що мітохондрії можуть забезпечити зниження концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у гладеньком'язовій клітині за фізіологічно значущий час (30 с) [13]. Тобто мітохондрії активно задіяні у підтриманні  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу.

Здатність мітохондрій швидко запасати великі кількості іонів  $\text{Ca}$  суперечить тому факту, що їх  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортери мають низьку спорідненість до катіона. Це явище пояснюється високою початковою максимальною швидкістю акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  та локалізацією мітохондрій поблизу  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів субклітинних структур (ендоплазматичний ретикулум, плазматична мембрана), де може відбуватися тимчасове локальне значне підвищення концентрації катіона [4, 6, 7].

Ефективність акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями визначається позамітохондріальною концентрацією катіона, електричним потенціалом на внутрішній мітохондріальній мембрані та вмістом іонізованого  $\text{Ca}$  у матриксі [14]. Концентрація вільного  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях підтримується на певному оптимальному гомеостатичному рівні і залежить від одночасного перебігу трьох процесів: накопичення катіона, зв'язування з внутрішньомітохондріальними буферами та вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  органелами [15]. Мітохондрії мають високу  $\text{Ca}^{2+}$ -акумулювальну ємність, для прояву якої потрібна наявність у середовищі неорганічного фосфату та аденінових нуклеотидів у фізіологічних концентраціях. У матриксі мітохондрій утворюються  $\text{Ca}^{2+}$ -фосфатні комплекси, подібні за хімічним складом та структурою до гідроксиапатиту та трикальційфосфату. Ці комплекси можуть швидко дисоціювати, наприклад при колапсі електрохімічного мембранного потенціалу та заокисненні матриксу [1, 4, 5, 16, 17].

Показано, що концентрація вільного іонізованого  $\text{Ca}^{2+}$  в матриксі мітохондрій ( $[\text{Ca}^{2+}]_m$ ), яка визначалася різними методами за неоднакових умов навантаження, завжди знаходиться в межах 0,5-5 мкмоль/л за наявності у середовищі неорганічного фосфату [1, 4, 5, 16, 17]. При цьому загальна концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  у матриксі мітохондрій може сягати 1 моль/л [4, 18]. Про високу буферну ємність матриксу щодо  $\text{Ca}^{2+}$  свідчить той факт, що збільшення загального питомого вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  у 50 разів (від 10 до 500 нмоль/мг протеїну) призводило до підвищення концентрації вільного іонізованого  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях менше ніж на 50 % [5, 7].

Корисні розрахунки було проведено у 80-х роках минулого сторіччя у відділі біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ, на гладенькому м'язі матки (міометрії) корів та людини. Виявилося, що у мітохондріях міститься близько 22 % всього зв'язаного в міометрії  $\text{Ca}^{2+}$ . Кальцієва ємність

мітохондрій міометрія (3,6 ммоль/кг маси сухої речовини тканини) у 4 рази більша, ніж саркоплазматичного ретикулума. Початкова швидкість акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях клітин гладенького м'язу матки у 10-20 разів більша, ніж у мікосомальній фракції, яка, як відомо, збагачена фрагментами плазматичної мембрани та саркоплазматичного ретикулума [13].

Концентраційний градієнт  $\text{Ca}^{2+}$  на внутрішній мембрані мітохондрій не підлягає рівнянню Нернста, оскільки при різниці потенціалів -180 мВ (зі знаком “-” на внутрішньому боці мембрани) співвідношення концентрацій вільного  $\text{Ca}^{2+}$  в матриксі та міжмембранному просторі повинно становити  $10^6$ , а реально становить від 1 до 10 [16]. Це пояснюється тим, що співвідношення  $\text{Ca}^{2+}$  по обидва боки мембрани визначається стаціонарною рівновагою між процесами електрофоретичного входу катіона та його виходу з органел через  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ - та  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінники.

Згідно з так званою «уніфікованою моделлю» регуляції транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  у мітохондріях та підтримання  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу матриксу,

ці процеси можна умовно розділити на три фази. Під час першої вміст  $[\text{Ca}^{2+}]_m$ , що може змінюватись через коливання  $[\text{Ca}^{2+}]_c$ , сягає стаціонарного стану внаслідок одночасного проходження протилежних процесів акумуляції катіона та його вивільнення через функціонування вищезазначених катіонних обмінників. На другій фазі  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  сягає понад 500 нмоль/л, акумуляція катіона перевищує транспортувальну здатність обмінників і  $\text{Ca}^{2+}$  починає накопичуватись у мітохондріях, що супроводжується утворенням  $\text{Ca}^{2+}$ -фосфатного комплексу для компенсації надходження катіона. На третій фазі транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  у мітохондрії відбувається перевищення буферної ємності матриксу, що призводить до різкого зростання  $[\text{Ca}^{2+}]_m$  та активації мітохондріальної пори, через яку  $\text{Ca}^{2+}$  вивільняється до цитозолу [1, 4, 15].

## 2. Шляхи надходження $\text{Ca}^{2+}$ у мітохондрії

Транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  через зовнішню мітохондріальну мембрану відбувається завдяки потенціалзалежному аніонному каналу VDAC (з англ. voltage-dependent anion channel) (рис. 1) [6, 15, 17, 19].

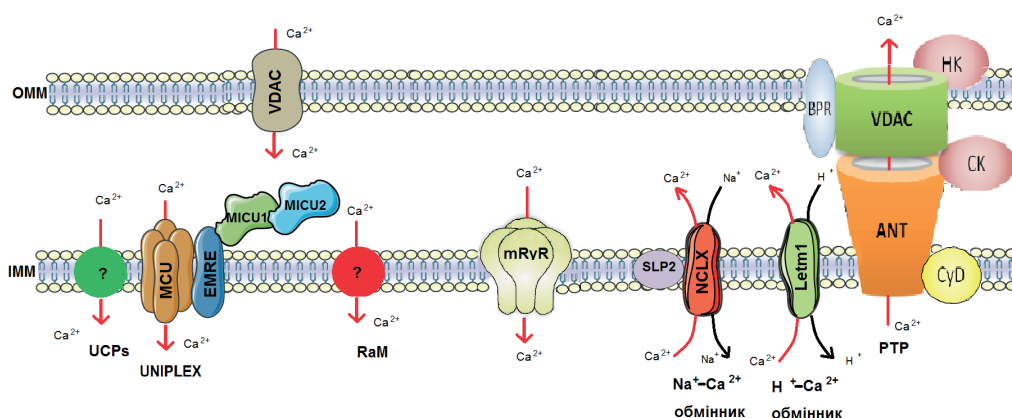


Рис. 1. Системи трансмембранного обміну  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях ([30], в нашій модифікації). ОММ – зовнішня мітохондріальна мембрана; ІММ – внутрішня мітохондріальна мембрана; VDAC – потенціалзалежний аніонний канал; UNIPLEX – комплекс  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера: MCU – мітохондріальний кальцієвий уніпортер, MICU1 (з англ. mitochondrial calcium uptake 1), MICU2 (з англ. mitochondrial calcium uptake 2), EMRE (з англ. essential MCU regulator); mRyR – мітохондріальний ріанодіновий рецептор; RaM – система швидкого кальцієвого входу; UCPs – роз’єднувальні протеїни; NCLX – мітохондріальний  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Li}^+$ -обмінник; SLP2 – стоматинподібний протеїн 2; Letm1 – з англ. leucine zipper and EF-hand containing transmembrane protein 1; PTP – мітохондріальна пора перехідної проникності; ANT – транспортер аденозину трифосфату, CyD – циклофілін D, BPR – бензодіазепіновий рецептор, HK – гексокіназа, CK – креатинкіназа

За умови надмірної експресії VDAC підвищується акумуляція  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями. Натомість при нокдауні гена, який кодує VDAC, спостерігається  $\text{Ca}^{2+}$ -індуковане набухання мітохондрій, що не відрізняється від такого в мітохондріях клітин дикого типу; це може вказувати на участь у транспорті катіона й інших протеїнів зовнішньої мітохондріальної мембрани [15].

Транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  через внутрішню мітохондріальну мембрану забезпечується функціонуванням низки каналів та обмінників, властивості та, подекуди, структура яких описані нижче.

Мітохондріальний  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер забезпечує швидке і масоване надходження катіону до матриксу, функціонуючи при мікромолярних концентраціях  $\text{Ca}^{2+}$  (рис. 1). За своїми електрофізіологічними характеристиками уніпортер являє собою, найімовірніше,  $\text{Ca}^{2+}$ -селективний іонний канал вхідного випрямлення, що транспортує іони Ca за електрофоретичним механізмом внаслідок наявності трансмембранного електричного потенціалу на внутрішній мембрані мітохондрій. Методом patch clamp у мітопластах (ізолювані органели із інтактною внутрішньою, але зруйнованою зовнішньою мембранами) різних типів клітин виявлено кілька каналів з подібними до  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера властивостями. Зокрема, в клітинах COS-7 знайдено  $\text{MiCa}$ -канали (мітохондріальні кальцієві) та показано, що провідність поодинокого каналу є надвисока ( $5 \cdot 10^6$  іонів/с). У кардіоміоцитах людини знайдено  $\text{mCa1}$ - та  $\text{mCa2}$ -канали з дещо іншими властивостями, що може вказувати на тканино- або видоспецифічність цих структур [17, 20].

У електрофізіологічних дослідженнях встановлено, що в 99 % ймовірність відкритого стану  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера спостерігається при потенціалі – 200 мВ та зменшується до 11 % при – 80 мВ.  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер мітохондрій деяких тканин має низьку спорідненість до іонів Ca ( $K_{0,5} \leq 200$  мкмоль/л), активується

за концентрації катіона, що перевищує 200 нмоль/л, а насичення за  $\text{Ca}^{2+}$  досягається при 200 мкмоль/л. Крива залежності поглинання  $\text{Ca}^{2+}$  від  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  має сигмоподібний вигляд з коефіцієнтом Хілла, що дорівнює 2 (мітохондрії серця та печінки [2]). Останній факт вказує на наявність двох сайтів зв'язування іона. Високі  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  пригнічують активність  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера, це може захищати мітохондрії від  $\text{Ca}^{2+}$ -перевантаження. Антагоністи кальмодуліну також зменшують поглинання  $\text{Ca}^{2+}$ , що може свідчити про активацію  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера комплексом  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін [1, 2, 14, 15, 20-23]. Показано, що при деполяризації внутрішньої мітохондріальної мембрани  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер може працювати у реверсному режимі, забезпечуючи вихід  $\text{Ca}^{2+}$  із матриксу [23].

Мітохондріальний  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер транспортує двовалентні катіони у такому порядку:  $\text{Ca}^{2+} \sim \text{Sr}^{2+} > \text{Mn}^{2+} \sim \text{Ba}^{2+}$ , а також іони Na за відсутності двовалентних катіонів, проте він не транспортує  $\text{K}^+$  та  $\text{Mg}^{2+}$  [17]. Поліаміни, інгібітор p38 MAP-кінази сполука SB 202190, неорганічний фосфат (через преципітацію іонів Ca в матриксі), таурин та флавоноїди активують транспорт  $\text{Ca}^{2+}$ , що забезпечується  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортером. Для тканини міометрія показана стимуляція  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера оксидом азоту [24, 25].

Інгібіторами  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера є RuR – рутенієвий червоний ( $K_i \sim 30$  нмоль/л), барвник, котрий взаємодіє з мукополісахаридами та сіаловими кислотами біомембран, та його похідне Ru360 – сполуки, які також блокують інші типи  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів, що свідчить про каналну природу уніпортера. Гальмівну дію щодо нього мають лантаніди, аналоги та похідні амілориду, моноциклін, кардіоактивні препарати [1, 2, 7, 14, 23, 26]. Акумуляція  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями ефективно пригнічується за наявності дихальних інгібіторів (ціаніди, азиди, ротенон, антимицин), протоніофорів (FCCP, CCCP, 2,4-динітрофенол). Дія цих сполук пов'язана із модуляцією електронно-транспортного ланцюга або дисипацією

електрохімічного градієнта протонів [3, 23, 26]. Активність  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера модулюється протеїніназами, зокрема РКС та р38 MAP-кіназою [2, 17].

У відділі біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ досліджувалися окремі кінетичні особливості функціонування  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера у мітохондріях клітин гладенького м'яза матки. Основні кінетичні характеристики  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортеру такі: він має низьку спорідненість до  $\text{Ca}^{2+}$  ( $K_{0,5}$  складає від 1 до 54 мкмоль/л залежно від методики дослідження та об'єкту), але високе значення максимальної швидкості ( $V_{\max}$ ), що становить 30-600 нмоль  $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$  протеїну; коефіцієнт Хілла дорівнює 1,3-1,7. На відміну від мітохондрій деяких інших типів клітин, в міомерії вони не здатні накопичувати  $\text{Ca}^{2+}$  за відсутності АТФ, який потрібний для реверсної роботи АТФ-синтази та забезпечення рушійної сили (формування електрохімічного градієнта протонів,  $\Delta p$ ) входу  $\text{Ca}^{2+}$ . Наявність  $\text{Mg}^{2+}$  також є необхідною для накопичення  $\text{Ca}^{2+}$ , константа активації за цим катіоном ( $K_{\text{Mg}}$ ) сягає 1,7-4,27 ммоль/л, значення оптимальної концентрації  $\text{Mg}^{2+}$  становить 5-10 ммоль/л; за 10 ммоль/л і вище іони Mg блокують накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями [3, 19, 26, 27].

Згідно з останніми даними,  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер є частиною макромолекулярної структури, відомої як комплекс  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортеру (UNIPLEX, з англ. calcium uniporter complex). До його складу входять протеїни MCU (з англ. mitochondrial calcium uniporter), MCUb (з англ. mitochondrial calcium uniporter b), MICU1 (з англ. mitochondrial calcium uptake 1), MICU2 (з англ. mitochondrial calcium uptake 2), MCUR1 (з англ. mitochondrial calcium uniporter regulator 1), EMRE (з англ. essential MCU regulator) [28-30].

MCU – каналоформуючий протеїн, молекулярна структура якого на сьогодні невідома. Як передбачається, він складається з двох трансмембранних спіралей, що розділені висококонсервативним лінкером, який звер-

нений у міжмембранний простір, а N- та C-кінці виступають у матрикс. Показано, що саме лінкерна ділянка має вирішальне значення як для транспортальної активності уніпортера, так і в його чутливості до Ru360. Припускають, що MCU формує олігомери з кількох глікопротеїнів [1, 14, 23, 28-31].

MCUb – паралог MCU ( $\approx 50\%$  ідентичних послідовностей), що може утворювати олігомерні комплекси з MCU, виконуючи роль домінантно-негативного регулятора даного протеїна. MICU1, що містить два  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючі «EF-hand» домени, але не входить до складу каналу, розглядається як регуляторний протеїн, що забезпечує позитивну кооперативність акумуляції катіона при підвищенні  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  до значень кількох мікромоль на 1 л. Цей протеїн закриває канал уніпортера за низьких концентрацій  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  ( $\approx 100$  нмоль/л). MICU2 – ізоформа MICU1, яка формує гетеродимери з MICU1. Існує припущення, що саме MICU2, а не MICU1, забезпечує закривання каналу за низьких значень  $[\text{Ca}^{2+}]_c$ . EMRE – протеїн, що необхідний для взаємодії MCU із димерами MICU1/2. З'ясування ролі інших компонентів комплексу MCU потребує подальших досліджень [28-30].

Існують дані, що роз'єднувальні протеїни (з англ. uncoupling protein) UCP2 та UCP3 можуть входити до складу комплексу уніпортера; надекспресія UCPs підвищувала акумуляцію  $\text{Ca}^{2+}$ , тоді як їх нокдаун знижував цей транспортний процес [2, 7, 15, 17, 30]. Втім функціонування лише UCPs у мембрані недостатнє для акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  [7, 15].

«Швидкий кальцієвий вхід» забезпечує локальні періодичні зростання концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях протягом мілісекунд, що спостерігалися в тканинах печінки, серця, мозку (див. рис. 1). Система «швидкого входу  $\text{Ca}^{2+}$ » транспортує іон приблизно у тисячу разів швидше, ніж  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер, але протягом короткого часу, оскільки швидко інактивується кальцієм через  $\text{Ca}^{2+}$ -



зв'язувальні сайти при збільшенні  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  до 200 нмоль/л. Молекулярна структура та функціональне значення системи «швидкого входу  $\text{Ca}^{2+}$ » невідомі. Припускають, що ця система викликає швидкий вхід у мітохондрії мінімальних кількостей іонів  $\text{Ca}$ , які є достатніми для активації продукції АТФ. Як і  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер, «швидкий вхід  $\text{Ca}^{2+}$ » інгібується RuR та активується сперміном. Оскільки рушійною силою  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальної системи є електричний потенціал на внутрішній мітохондріальній мембрані, можливо, система «швидкого входу  $\text{Ca}^{2+}$ » не є окремим типом  $\text{Ca}^{2+}$ -канала, а являє собою певний стан  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера [4, 14, 20-22].

Мітохондріальний ріанодиновий рецептор – канал, який здійснює швидке захоплення  $\text{Ca}^{2+}$  з високою провідністю та відносно низькою селективністю (див. рис. 1). Залежність транспортного процесу від концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  має біфазний характер з константою активації за  $\text{Ca}^{2+}$  близько 2 мкмоль/л для мітохондрій серця. Максимальний вхід  $\text{Ca}^{2+}$  відбувається при його концентрації 10-40 мкмоль/л, але при концентрації катіона 50 мкмоль/л канал пригнічується, що може захищати мітохондрії від  $\text{Ca}^{2+}$ -перевантаження та відкривання пори перехідної проникності. У серцевому м'язі активація мітохондріального ріанодинового рецептора може бути основою  $\text{Ca}^{2+}$ -індукованої генерації АТФ, що потрібна для скорочення. Пригнічуються канали мітохондріального ріанодинового рецептора ріанодином,  $\text{Mg}^{2+}$  та RuR, активуються імператоксином з отрути скорпіона. За реверсії електрохімічного градієнта або кальцієвому перевантаженні активація цих структур може призводити до вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із мітохондрій, у такому разі опосередковане ними звільнення катіона також може відігравати протекторну щодо мітохондрій роль [2, 14, 18, 20, 22, 30].

Мітохондріальний ріанодиновий рецептор був ідентифікований як скелетно-м'язова

ізоформа ріанодинового рецептора. Він відрізняється від ріанодинового рецептора ендоплазматичного ретикулума чутливістю до кофеїну,  $\text{Mg}^{2+}$  та RuR. Щільність каналу в мітохондріях у 10-20 разів менша, ніж у ретикулумі. На відміну від скелетно-м'язової ізоформи, зв'язування мітохондріального ріанодинового рецептора з ріанодином було кофеїннечутливе [14, 22].

Вищеописані  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортні системи мітохондрій можуть відігравати неабияку роль у підтриманні  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу клітин гладеньких м'язів, зокрема, забезпечуючи енергозалежну акумуляцію катіона із міоплазми після кальцієвого транзєнта. Натомість, підтримуючи концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$  у матриксі на оптимальному фізіологічному рівні, вони забезпечують нормальну роботу мітохондріальних ензимів. Іони  $\text{Ca}$  є активаторами низки дегідрогеназ, отже, регулюють функціонування електронно-транспортного ланцюга.  $\text{Ca}^{2+}$  активує відповідні підтипи  $\text{K}^+$ -каналів у мітохондріях, які є важливими для передачі в них сигналів та осморегуляції [1, 6-8]. Водночас надмірне зростання концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в матриксі ( $\text{Ca}^{2+}$ -перевантаження) є однією з причин і супроводжує дисфункцію мітохондрій. Воно пов'язане з незворотною і тривалою деполяризацією внутрішньої мітохондріальної мембрани та вивільненням апоптогенних факторів у цитозоль [1, 16, 18, 32, 33]. Аналізу систем, які сприяють зниженню концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в матриксі, присвячена наступна частина нашого огляду.

### 3. Шляхи вивільнення $\text{Ca}^{2+}$ з мітохондрій

До систем транспорту  $\text{Ca}$  із мітохондрій належать  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ - і  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінники внутрішньої мітохондріальної мембрани та пора перехідної проникності, яка функціонує за умов перевантаження матрикса  $\text{Ca}^{2+}$ .  $\text{Na}^+$ -залежний обмінник ідентифіковано у електрозбудливих тканинах, тоді як  $\text{Na}^+$ -незалежний  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник – у незбудливих, таких як тканини печінки, нирки, легенів

тощо, а також у гладеньких м'язах; у деяких тканинах знайдено обидва типи обмінників [8, 9, 21, 27, 34, 35].

$\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник (див. рис. 1) здійснює транспорт  $\text{Na}^+$  у мітохондрії в обмін на  $\text{Ca}^{2+}$  матриксу. Існує точка зору щодо його електрогенності і одночасного перенесення трьох іонів  $\text{Na}$  та одного іона  $\text{Ca}$ . Водночас наводяться дані про неелектрогенність обмінника та стехіометрію: два іони  $\text{Na}$  до одного іона  $\text{Ca}$ . Повернення концентрації  $\text{Na}^+$  у мітохондріях до попереднього значення забезпечується роботою  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$ -обмінника [4, 9, 15, 21].  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник мітохондрій більш специфічний до  $\text{Ca}^{2+}$ , ніж до  $\text{Mg}^{2+}$  та  $\text{Mn}^{2+}$ , з іншого боку, він мало селективний до  $\text{Na}^+$ , так як  $\text{Li}^+$  може замінювати цей катіон, але не  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{K}^+$  та  $\text{Rb}^+$ . Кінетичні характеристики  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника мітохондрій (печінка, серце) такі: константа активації за  $\text{Ca}^{2+}$  ( $K_{\text{Ca}}$ ) становить 8 нмоль/л, максимальна швидкість транспортного процесу ( $V_{\text{max}}$ ) – від 2,6 до 18,0 нмоль  $\text{Ca}^{2+} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$  протеїну, константа активації за  $\text{Na}^+$  ( $K_{\text{Na}}$ ) сягає 7-12 ммоль/л. Навіть незначні коливання концентрації  $\text{Na}^+$  істотно модулюють його транспортну активність [9].

$\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник мітохондрій має кілька сайтів зв'язування  $\text{Ca}^{2+}$ ; за мікромольних концентрацій іонів  $\text{Ca}$  в позамітохондріальному середовищі індукується часткове (до 70 %) гальмування його активності. Функціонування обмінника також регулюється рН у вузькому діапазоні значень (7,5-7,6), але природа впливу рН на нього залишається невідомою. Активується  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник мітохондрій іонами  $\text{K}$  та коротколанцюговими алканоллами. Його блокаторами є двовалентні катіони  $\text{Zn}$ ,  $\text{Co}$ ,  $\text{Sr}$ ,  $\text{Ni}$ ,  $\text{Mg}$ ,  $\text{Ba}$ ,  $\text{Mn}$ , а також тривалентний катіон  $\text{La}$ . Також він пригнічується напрочуд широким спектром органічних сполук: тетрафенілфосфонієм ( $K_i=0,2$  мкмоль/л), сполукою CGP-37157 ( $K_i=0,4$  ммоль/л), трифлюоперазином (відомим антагоністом кальмодуліна), дилтіаземом, верапамілом (блокаторами

$\text{Ca}^{2+}$ -каналів плазмалеми), клоназепамом, беприділом, діетилпірокарбонатом, діуретиком і інгібітором  $\text{Na}^+$ -провідності амілоридом та його аналогами, циклоспорином А, RuR. Тетрафенілфосфоній розглядається як відносно специфічний інгібітор  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника [4, 9, 15, 21, 22, 36].

Активність  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника мітохондрій модулюється принаймні двома протеїнкіназами (PKC та PINK1) та антиапоптичним протеїном Bcl-2. Локалізований на внутрішній мітохондріальній мембрані білок SLP-2 пригнічує мітохондріальний  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  обмін [8, 30].

Мітохондрії здатні також і до акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  із залученням  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника, який наразі працює у реверсному режимі. Показано, що мітохондрії накопичують катіон за наявності у середовищі протонофора FCCP або RuR, але цей процес не відбувається за відсутності  $\text{Na}^+$  [2, 22].

Нині молекулярна структура мітохондріального  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника невідома. Поліпептид масою 110 кДа, виділений з мітохондрій та реконструйований в ліпосоми, виявляв активність цієї транспортувальної системи. Існує гіпотеза, що  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінники мітохондрій та плазматичної мембрани подібні за будовою, зокрема показана присутність 1-3 ізоформ обмінника плазмалеми в мітохондріальній фракції. Водночас катіонна селективність та чутливість до інгібіторів  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника мітохондрій відрізняються від таких у обмінника плазматичної мембрани, а підвищення експресії останнього в клітинах не викликає зміни активності цієї транспортної системи у мітохондріях. Нещодавно було виявлено продукт гена *flj22233*, який виявляв активність  $\text{Li}^+$ - та  $\text{Na}^+$ -залежного  $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника та був названий NCLX (з англ. mitochondrial  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Li}^+$ -exchanger). Показано локалізацію NCLX у внутрішній мітохондріальній мембрані; підвищення його експресії посилює вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з мітохондрій, а нокаут і нокадаун відповідного

гена супроводжується зникненням активності  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника [8, 22, 36].

$\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник. Протеїн Letm1 (з англ. leucine zipper and EF-hand containing transmembrane protein 1), який було виявлено в S2-клітинах дріжджів із використанням методу РНК-інтерферуючого скринінгу, спочатку було описано як  $\text{H}^+$ - $\text{K}^+$ -обмінник, а згодом ідентифіковано як  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник (див. рис. 1). Він транспортує  $\text{Ca}^{2+}$  із мітохондрій, використовуючи енергію градієнта  $\text{H}^+$ , але може також працювати в реверсному режимі, забезпечуючи накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях за його низьких цитозольних концентрацій ( $< 1$  мкмоль/л) [2, 8, 14, 17, 27, 37, 38]. Показано, що у ліпосомах з вбудованим Letm1 закиснення середовища інкубації викликає вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ , тоді як його залуження супроводжується накопиченням катіона [38].

Кінетичні характеристики  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника такі: константа активації за  $\text{Ca}^{2+}$  ( $K_{\text{Ca}}$ ) становить 137 нмоль/л, максимальна швидкість транспортного процесу ( $V_{\text{max}}$ ) дорівнює  $4,2 \text{ нмоль } \text{Ca}^{2+} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$  протеїну (для ліпосом з вбудованим Letm1) [39];  $K_{\text{Ca}} = 8,4$  нмоль/л,  $V_{\text{max}} = 1,20 - 6,56 \text{ нмоль } \text{Ca}^{2+} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$  протеїну, коефіцієнт Хілла становить 1,9 - 2,4, константа активації за іонами водню ( $K_{\text{H}}$ ) – 52,10 нмоль/л ( $\text{pH}_a$  7,28) (ізольовані мітохондрії печінки) [40, 41];  $K_{\text{H}} = 129$  нмоль/л ( $\text{pH}_a$  6,9), коефіцієнт Хілла становить 0,9 (ізольовані мітохондрії міоцитів) [27]. Замість  $\text{Ca}^{2+}$  можуть транспортуватись іони Sr, Ba, Mn [9]. У міоцитів було ідентифіковано систему  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обміну,  $V_{\text{max}}$  якої залежала від початкової концентрації катіона у мітохондріях (при вмісті  $\text{Ca}^{2+}$  40-50 та 200-300 нмоль/мг протеїну  $V_{\text{max}}$  становила відповідно 0,3-0,7 та 40-50 нмоль  $\cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$  протеїну) [3, 34].

Щодо стехіометрії  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обміну існують різні точки зору, деякі з яких ґрунтуються на термодинамічних розрахунках і підтверджені експериментальними даними: електрогенний режим зі стехіометрією 1  $\text{Ca}^{2+}$  : 1  $\text{H}^+$  та електронейтральний зі стехіометрією обміну 1

$\text{Ca}^{2+}$  : 2  $\text{H}^+$ . Описана також стехіометрія 1  $\text{Ca}^{2+}$  : 3  $\text{H}^+$  [2, 9, 37, 40, 42].

Відомо дуже мало ефекторів  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника. Пригнічувальну дію проявляють роз'єднувачі окисного фосфорилування у низьких концентраціях (динітрофенол, протонатори FCCP та CCCP), ціаніди, RuR та Ru 360,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , лантанові, частково CGP-37157. Специфічних інгібіторів цього обмінника не виявлено [9, 14, 21, 23, 42].  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмін мітохондрій міоцитів стимулювався естрогенами, простагландинами [3, 34], амilorидом, калікс[4] аренами C-97 та C-99 і пригнічувався іонами Mg [35].

Letm1 є висококонсервативним, повсюдно експресованим мітохондріальним протеїном еукаріот (має від 31 до 83 % гомології для різних об'єктів), хоча було показано його наявність також в ендоплазматичному ретикулумі, де він може забезпечувати підтримку рН-гомеостазу люмена. Людський Letm1 – протеїн з молекулярною масою 83,4 кДа, у разі дріжджів його маса становить 113,6 кДа. Родина Letm1-протеїнів має гідрофобний N-кінцевий домен, що знаходиться в міжмембранному просторі, трансмембранний домен, що може регулювати процес димеризації, та велику гідрофільну частину, в тому числі C-кінцевий домен, що розташований в матриці і містить субстратв'язуючий сайт, суперспіралізовані домени та, окрім його дріжджових гомологів, два  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючі «EF-hand» мотиви [37, 43, 44]. Вважається, що Letm1 може існувати в двох різних конформаціях за лужних та кислих значень рН відповідно [45].

Оскільки інші субклітинні іонні обмінники мають кілька трансмембранних доменів, припускають, що в мономерному вигляді Letm1 не забезпечує  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмін. Показано, що Letm1 і його дріжджові гомологи Mdm38 та Mrs7 є компонентами високомолекулярних комплексів. Так, Letm1 та Mdm38 були знайдені у вигляді гомодимерів, а також можуть існувати як гомомультимери та



взаємодіяти з іншими протеїнами, наприклад, шапероном BCS1L [37, 43, 44]. Встановлено, що очищений рекомбінантний Letm1 миші (Letm1-дельта) є гексамером з молекулярною масою  $\approx 404$  кДа, який утворює центральну порожнину [45].

Припускається, що Letm1 може функціонувати також як  $H^+$ - $K^+$ -обмінник, регулюючи  $K^+$ -гомеостаз та об'єм мітохондрій. У дріжджів, мутантних за протеїном Mdm38 – гомологом Letm1, відсутність  $H^+$ - $K^+$ -обміну викликала накопичення мітохондріями іонів  $K$  та їх набухання; цей ефект знімався  $H^+$ - $K^+$ -іонофором нігерицином, а також в умовах експресії Letm1. Проте не виключають, що сам Letm1, принаймні у вигляді мономера, не є  $H^+$ - $K^+$ -обмінником [42], але може входити до складу високомолекулярного комплексу, який забезпечує  $H^+$ - $K^+$ -обмін. Зокрема виявлено, що продукт гена *udl183c*, разом з протеїнами Mdm38 та Mrs7, є також необхідним для здійснення  $H^+$ - $K^+$ -обміну у клітинах дріжджів [2, 37, 44]. Ген, що кодує Letm1 розташований у короткому плечі 4-ї хромосоми. Його делеція спостерігається у пацієнтів з синдромом Wolf-Hirschhorn [2, 37, 43, 46]. Показано, що нокаут Letm1 супроводжується зростанням рівня активних форм кисню, зниженням вмісту АТФ у мітохондріях, їх біоенергетичним колапсом і зупинкою клітинної проліферації [47]. Існують дані, що Letm1/Mdm38 також відіграють роль у експортному механізмі мітохондрій, взаємодіючи з рибосомами. Це може пояснити зниження вмісту протеїнів дихального ланцюга, зокрема цитохрому *b*, зменшення  $\Delta\psi$ , інтенсивності дихання та синтезу АТФ в мітохондріях, позбавлених Letm1/Mdm38. Продемонстровано також, що надекспресія Letm1 призводить до каспазозалежної некротичної загибелі клітин. Крім того, цей обмінник може модулювати активність білка OPA1, впливаючи на морфологію мітохондрій, а його відсутність призводить до фрагментації органел [2, 37, 44, 46].

Мітохондріальна пора перехідної проник-

ності (див. рис. 1) являє собою неселективний мегаканал з кількома станами провідності, що утворений компонентами обох мітохондріальних мембран, такими як VDAC, аденін-нуклеотидний транслокатор та циклофілін D. Проте спостерігалось функціонування пори і за відсутності аденіннуклеотидного транслокатора та циклофіліну D. Існує припущення, що до складу пори можуть входити також димери АТФ-синтази. Через пору перехідної проникності здатні вільно проходити лише молекули, що менші ніж 1,5 кДа. Пригнічується пора антибіотиком та імунодепресантом циклоспорином А в наномолярних концентраціях, який зв'язується з циклофіліном D, а також іонами  $Mg$ ,  $Mn$ , відновленими пуриновими нуклеотидами (НАДН, НАД(Ф)Н) та тіолами. Відомими чинниками відкриття пори є перевантаження матриксу іонами  $Ca$ , а також активні форми кисню (АФК), окиснені пуринові нуклеотиди та дитіоли, деполяризація внутрішньої мітохондріальної мембрани, високі концентрації неорганічного фосфату. Незворотне відкриття пори перехідної проникності призводить до деполяризації внутрішньої мітохондріальної мембрани, порушення осмотичного балансу між матриксом та позамітохондріальним середовищем, набухання мітохондрій, розриву зовнішньої мітохондріальної мембрани, звільнення цитохрому *c* та інших апоптичних факторів до цитозолу [1, 16, 18, 30, 32, 33].

Існує гіпотеза, що транзйентні відкриття мітохондріальної пори, частота яких, в першу чергу, залежить від концентрації вільного  $Ca^{2+}$  в матриксі, є фізіологічним процесом і можуть забезпечувати швидкий вихід  $Ca^{2+}$  з мітохондрій за умови існування градієнта катіона та запобігати їх  $Ca^{2+}$ -перевантаженню. Вважається, що транзйентне відкриття пори перехідної проникності відбувається тоді, коли концентрація  $Ca^{2+}$  в мітохондріях підвищується до межі, що перевищує транспортувальну здатність  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ - та  $H^+$ - $Ca^{2+}$ -обмінників [4, 18, 32, 33, 48].

У таблиці коротко сумовано основні фізіологічні, молекулярні та біохімічні характеристики мітохондріальних шляхів транспорту  $\text{Ca}^{2+}$ . Наявність численних складно організованих  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальних систем у внутрішній мітохондріальній мемб-

рані знаходиться у відповідності із першочерговим значенням іонів Са для забезпечення функціональної активності мітохондрій. Водночас мітохондрії суттєво впливають на перебіг  $\text{Ca}^{2+}$  сигналізації та беруть участь у регуляції  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу в клітині.

Характеристика систем трансмембранного обміну  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях.

Назва системи	Структура та функції	Молекулярна структура	Кінетичні характеристики	Активатори	Інгібітори	Посилання
Мітохондріальний $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер	Канал, що забезпечує електрофоретичний вхід $\text{Ca}^{2+}$ до мітохондрій (може працювати в реверсному режимі)	Макромолекулярний комплекс: MCU, MCUb, MICU1, MICU2, MCUR1, EMRE	$K_{\text{Ca}} = 1\text{-}54$ мкмоль/л, $V_{\text{max}} = 30\text{-}600$ нмоль $\text{Ca}^{2+}$ ·хв <sup>-1</sup> . $n_{\text{H}} = 1,3\text{-}1,7$ (для міометрія)	Поліаміни, інгібітор р38 MAP-кінази SB 202190, неорганічний фосфат, таурин та флавоноїди	RuR та Ru360, лантаноїди, аналоги та похідні амілориду, моноцикліні, кардіоактивні препарати, дихальні інгібітори (ціаніди, азиди, ротенон, антимицин), протонофори (FCCP, CCCP, 2,4-динітрофенол)	[1,2, 15, 17, 19-23, 25-30]
«Швидкий кальцієвий вхід»	Забезпечує локальні періодичні зростання концентрації $\text{Ca}^{2+}$ в мітохондріях; може бути певним станом уніпортера	Невідома	Немає даних	Спермін	RuR	[1, 4, 14, 20-22]
Мітохондріальний ріанодиновий рецептор	Канал швидкого захоплення $\text{Ca}^{2+}$	Гомотетрамерний канал	Немає даних	Імператоксин з отрути скорпіона	Ріанодин, $\text{Mg}^{2+}$ та RuR	[2,14, 18,20, 22,30]
$\text{Na}^{+}\text{-Ca}^{2+}$ -обмінник	Забезпечує вивільнення одного іона Са в обмін на три іони Na	Невідома	$K_{\text{Ca}} = 8\text{-}10$ нмоль/л, $V_{\text{max}} = 2,5\text{-}18$ нмоль $\text{Ca}^{2+}$ ·хв <sup>-1</sup> . протеїну	Іони К, коротколанцюгові алканоли	$\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Co}^{2+}$ , $\text{Sr}^{2+}$ , $\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Ba}^{2+}$ , $\text{Mn}^{2+}$ та $\text{La}^{3+}$ , тетрафенілфосфоній, CGP-37157, трифлюоперазин, дилтіазем, верапаміл, клоназепам, беприділ, діетилпірокарбонат, амілорид та його аналоги, циклоспорин А, RuR	[2, 4, 8, 9,15, 21, 22, 30, 36]

Назва системи	Структура та функції	Молекулярна структура	Кінетичні характеристики	Активатори	Інгібітори	Посилання
H <sup>+</sup> -Ca <sup>2+</sup> -обмінник	Забезпечує вивільнення іонів Са в обмін на іони Н (в стехіометрії 1 Са <sup>2+</sup> : 1 Н <sup>+</sup> або 1 Са <sup>2+</sup> : 2 Н <sup>+</sup> ), може працювати в реверсному режимі та функціонувати також як Н <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -обмінник	Мономерний або олігомерний протеїн Letm1 та його дріжджові гомологи Mdm38 та Mrs7	K <sub>Са</sub> = 8,4-137,0 нмоль/л, V <sub>max</sub> = 1,20 - 6,56 нмоль·хв <sup>-1</sup> ·мг <sup>-1</sup> протеїну, n <sub>H</sub> = 0,9 - 2,4, рН <sub>0,5</sub> = 6,90-7,28	Естрогени, простагландини, амілорид, каліксарени С-97 та С-99 (для міометрія)	Динітрофенол, протонифори FCCP та CCCP, ціаніди, RuR та Ru 360, Sr <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> , лантаніди, частково CGP-37157, іони Mg	[2,8,9, 14, 17, 21, 23, 26,27, 35,37, 38,42-45]
Мітохондріальна пора перехідної проникності	Неселективний високопровідний мегаканал з кількома станами провідності. Незворотне відкриття пори призводить до індукції апоптозу чи некрозу; транзйентні відкриття пори можуть забезпечувати швидкий вихід Са <sup>2+</sup> з мітохондрій	VDAC, аденін-нуклеотидний транслокатор, цикло-філін D, можливо димери АТФ-синтази	Немає даних	Іони Са (за умови перевантаження матриксу), АФК, окиснені пуринові нуклеотиди та дитіоли, деполаризація мембрани, високі концентрації неорганічного фосфату	Циклоспорин А, іони Mg, Mn, відновлені пуринові нуклеотиди та тіоли	[1, 4, 16, 18, 30, 32, 33, 48]

#### 4. Фізіологічна роль іонів Са в мітохондріях. Мітохондрії та Са<sup>2+</sup>-гомеостаз

Активація клітини призводить до підвищення концентрації Са<sup>2+</sup> в цитоплазмі та зростання швидкостей АТФазних реакцій, що збільшує споживання АТФ. Одночасно Са<sup>2+</sup>, що надходить до мітохондрій, стимулює продукцію ними АТФ, відповідно до збільшених потреб клітини, через активацію Са<sup>2+</sup>-залежних дегідрогеназ, а саме піруватдегідрогенази та ензимів циклу Кребса - ізоцитратдегідрогенази та α-кетоглутаратдегідрогенази [1, 6-8]. Описано процес «мітохондріальної пам'яті» – довготривалої активації продукції АТФ, що продовжується аж до 60 хв після стимульовального Са<sup>2+</sup> сигналу [7]. Показано, що Са<sup>2+</sup>-чутливими є також АТФ-синтаза, транслоказа аденінових нуклеотидів, комплекси дихального ланцюга та «EF-hand»-вмісні переносники субстратів, що локалізовані

на рівні внутрішньої мітохондріальної мембрани. Однак описані умови, в яких деполаризуючий ефект Са<sup>2+</sup> на внутрішню мембрану мітохондрій перевищує його стимульовальний ефект на дегідрогенази, що призводить до Са<sup>2+</sup>-індукованого зниження рівня продукції НАДН [6-8, 49]. Відомо, що надмірне надходження Са<sup>2+</sup> до мітохондрій викликає генерацію активних форм кисню у цих органелах. Основним механізмом їх продукції є стимуляція іонами Са дихального ланцюга [7, 18].

Концентрація іонів Са в мітохондріях впливає на процеси фосфорилування/дефосфорилування їх протеїнів. Показано Са<sup>2+</sup>-залежне фосфорилування компонентів дихального ланцюга та ензимів циклу Кребса, Mn<sup>2+</sup>-залежної супероксиддисмутази, дефосфорилування піруватдегідрогенази з наступною її активацією [7].

Рух і морфологія мітохондрій також залежать від іонів  $\text{Ca}$ . Максимальна рухова активність спостерігається за низької концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у цитозолі у стані спокою (в середньому 100 нмоль/л) та повністю припиняється у разі збільшення вмісту катіона до 1-2 мкмоль/л. Припинення руху мітохондрій полегшує поглинання  $\text{Ca}^{2+}$  та постачання АТФ для акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  ендоплазматичним ретикуломом [7, 50].

Значну увагу дослідників привертають процеси взаємоузгодженого транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  на рівні плазматичної мембрани, сарко/ендоплазматичного ретикулума і мітохондрій [6-8]. У клітинах мітохондрії розташовані поблизу (на відстані від 5 до 100 нм) від ендоплазматичного ретикулума, контакт між органелами підтримується такими протеїнами, як MIRO, DRP1, MFN2 та комплексом Mdm1/Mdm10/Mdm12/Mdm34. Показано, що поглинання  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями активно відбувається в локальних ділянках з високою концентрацією катіона (20-100 мкмоль/л), які асоційовані з сайтами вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  ендоплазматичним ретикуломом. Продемонстрована наявність білкових містечків між VDAC та інозитол-1,4,5-трифосфат чутливими каналами ретикулума, що дає змогу здійснювати позитивну регуляцію поглинання  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями [6, 8, 23]. Водночас, утворюючи контакти із  $\text{Ca}^{2+}$ -акумулюючими ділянками ендоплазматичного ретикулума, мітохондрії забезпечують перезавантаження ретикулярного пулу катіона під час та після стимуляції клітини, що необхідно для активації  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних ретикулярних шаперонів, які відповідають за фолдинг протеїнів [7, 8, 15, 17, 18].

У збудливих клітинах мітохондрії локалізовані також поблизу потенціалкерованих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів плазматичної мембрани, де вони відіграють роль буфера для катіона, що надходить у клітину за деполяризації [2, 7, 18, 23]. На відстані 20 нм від каналу концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  може сягати 100

мкмоль/л, її зменшення забезпечують  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальні системи мітохондрій. У клітинах HeLa, де 60 % мітохондрій локалізовані поблизу ендоплазматичного ретикулума, вони можуть забезпечувати перезавантаження останнього, спрямовано транспортуючи  $\text{Ca}^{2+}$  від плазматичної мембрани, оминаючи цитозоль [7]. Показано також розташування мітохондрій біля депокерованих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів плазматичної мембрани, де вони підтримують канали в активному стані внаслідок усунення гальмувальної дії іонів  $\text{Ca}$  [2, 7, 23].

Таким чином, стратегічне розташування мітохондрій поблизу  $\text{Ca}^{2+}$ -мікродоменів (локальних областей високої концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ ) забезпечує швидку буферизацію катіона цими органелами, незважаючи на їх низьку спорідненість до  $\text{Ca}^{2+}$ . Тому мітохондрії здатні термінувати  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнал, зменшуючи його амплітуду та обмежуючи поширення. Локалізація мітохондрій поблизу  $\text{Ca}^{2+}$ -мікродоменів може також забезпечувати високі концентрації АТФ у місцях його споживання [7, 15, 21].

Ми намагалися підтвердити ключову роль, яку відіграють мітохондрії у підтриманні  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу в клітинах гладеньких м'язів на прикладі міометрії невагітних щурів. Оскільки саме електричний потенціал на внутрішній мембрані мітохондрій, як наслідок існування і підтримання електрохімічного градієнта протонів, є рушійною силою енергозалежної акумуляції іонів  $\text{Ca}$ , його руйнування повинно супроводжуватися зниженням ефективності транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондрії і відповідним зростанням концентрації вільного катіона у міоплазмі. Електрохімічний градієнт протонів ( $\Delta p$ ) включає дві компоненти:  $\Delta p\text{H}$  – хімічну та  $\Delta \psi$  – електричну. Із використанням потенціалчутливого флуоресцентного зонда 3,3'-дигексилоксакарбоціаніну та специфічного щодо мітохондрій барвника MitoTracker Orange CM-H<sub>2</sub>TMRos із застосуванням методу лазерної скануючої конфокальної мікроскопії



продемонстрована дисипація електричного потенціалу мітохондрій у разі їх обробки протонатором CCCP [51].

У разі CCCP (10 мкмоль/л) спостерігається також дисипація  $\Delta pH$ , що було продемонстровано гасінням флуоресценції барвника 9-аміноакридину, який накопичується у мембранних компартментах за наявності градієнту протонів (рис. 2) [51]. Таким чином, обробка міоцитів протонатором руйнує як електричну, так і хімічну компоненти  $\Delta p$  на внутрішній мітохондріальній мембрані.

Під впливом CCCP суттєво зростає концентрація  $Ca^{2+}$  в міоплазмі, згідно з даними щодо збільшення флуоресценції  $Ca^{2+}$ -чутливого зонда Fluo-4 (рис. 3). Ці дані під-

тверджують уявлення щодо ролі мітохондрій в механізмах підтримання  $Ca^{2+}$ -гомеостазу і, зокрема, низької фізіологічно необхідної концентрації іонів  $Ca$  в цитоплазмі клітин гладенького м'яза [51].

## 5. Трансмембранний обмін $Ca^{2+}$ в мітохондріях за патології

Надмірне зростання концентрації  $Ca^{2+}$  в матриксі мітохондрій призводить до посиленої генерації ними АФК внаслідок стимуляції катіоном дихального ланцюга. У свою чергу  $Ca^{2+}$ -перевантаження мітохондрій та гіперпродукція АФК органами лежать в основі розвитку таких патологічних станів, як серцево-судинні [52-55], нейродегенеративні

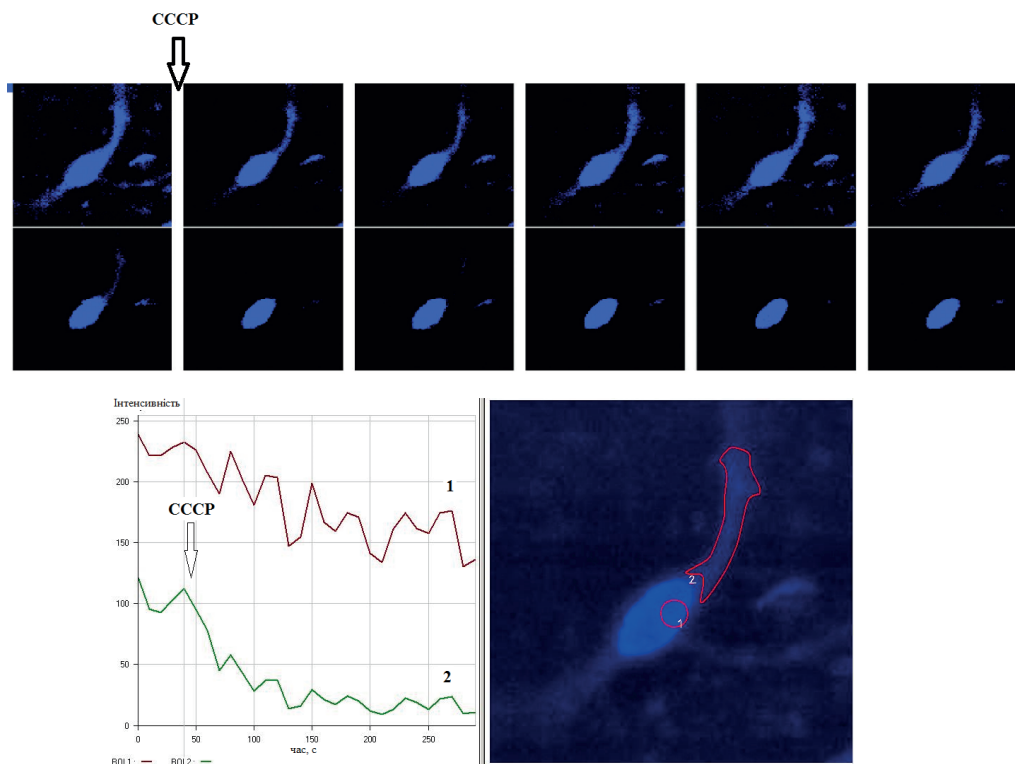


Рис. 2. Дисипація  $\Delta pH$  на внутрішній мембрані мітохондрій при дії протонатора CCCP. Гасіння флуоресценції 9-аміноакридину (10 мкмоль/л) за дії протонатора (верхня панель) та числова інтерпретація цього процесу - зміни флуоресценції (нижня ліва панель) у частині клітини ROI (Region Of Interest), що показана червоним (нижня права панель). Крива 1 – зміни у часі флуоресценції в ділянці ядра. Для маркування ядра використовували Hoechst 33342 (50 мкмоль/л). Крива 2 – зміни у часі флуоресценції 9-аміноакридину в позаядерній ділянці.

Оскільки як Hoechst 33342, так і 9-аміноакридин мають близькі величини довжини хвиль збудження та реєстрації флуоресценції, відбувається гасіння синьо-фіолетового забарвлення міоплазми за дії протонатора, водночас аналогічне забарвлення ядра з часом змінюється не суттєво

[56-58], запальні захворювання [59, 60], рак [61-63]. Саме тому перспективним напрямком у лікуванні вищезазначених патологій є мітохондріально-спрямована антиоксидантна терапія із використанням пластохінону, коензиму Q10, його аналога мітохінону, L-карнітину – сполук, які здатні відносно специфічно акумулюватися мітохондріями і чинити в цих компартментах антиоксидантну дію [56].

Показано, що зміни у мітохондріальному  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазі є характерною рисою дисфункції та загибелі кардіоміоцитів. Порушення транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями та надмірне утворення в них АФК має

вирішальне значення при ішемії-реперфузії та при кардіоміопатіях. Мітохондріальні кардіоміопатії можуть мати важкі прояви, включаючи серцеву недостатність, аритмію і раптову зупинку серця [52, 53, 56].

Енергетична недостатність при мітохондріальній дисфункції, а також порушення  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу та оксидативний стрес, як вважається, є центральними механізмами, що призводять до загибелі нервових клітин у разі таких нейродегенеративних захворювань, як хвороби Альцгеймера, Паркінсона, Хантінгтона, латеральний аміотрофічний склероз та демієлінізуючі захворювання [57, 58]. Показано, що при

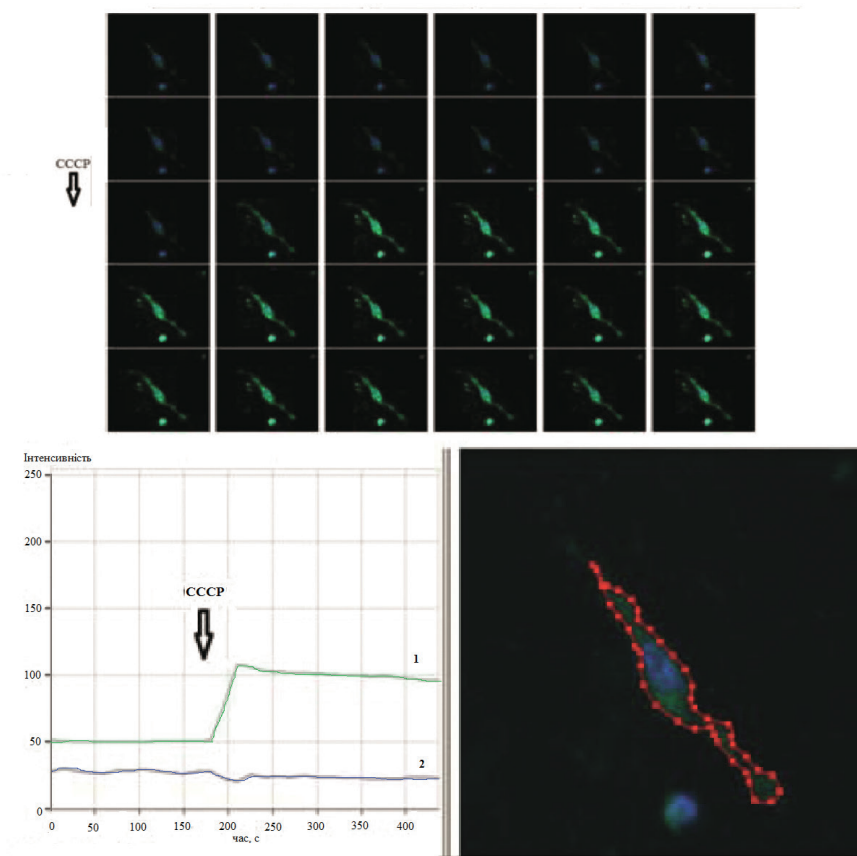


Рис. 3. Зростання концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в міоплазмі при дії 10 мкмоль/л протонифору CCCP. Візуалізація цього процесу за допомогою 10 мкмоль/л Fluo-4 AM (верхня панель) та його числова інтерпретація у частині клітини ROI, що забарвлена червоним (нижня права панель). Нижня ліва панель: крива 1 – флуоресцентний сигнал від Fluo-4, крива 2 – флуоресцентний сигнал від Hoechst 33342, 50 мкмоль/л (забарвлення ядра веретеноподібного міоцита)

хворобах Альцгеймера та Паркінсона спостерігається надмірне накопичення  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями, що призводить до збільшення продукції АФК, пригнічення синтезу АТФ, відкривання мітохондріальної пори та ініціювання апоптозу. Також при цих захворюваннях показано посилення контакту між мітохондріями та ендоплазматичним ретикуломом (мітохондріальним VDAC та інозитол-1,4,5-трисфосфат – рецептором ретикулума), що, в свою чергу, може призвести до  $\text{Ca}^{2+}$ -перевантаження мітохондрій [58].

Порушення мітохондріального  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу та гіперпродукція АФК пов'язані також із розвитком запальних процесів – остеоартрозу та сепсису [59]. Також  $\text{Ca}^{2+}$ -перевантаження мітохондрій є ключовим моментом у патогенезі гострого панкреатиту [60].

Зміна  $\text{Ca}^{2+}$ -транспорту у мітохондріях є одним з механізмів формування туморогенного сигнального каскаду, що призводить до онкогенного переродження, метаболічного репрограмування, нечутливості до апоптогенних стимулів, прогресування пухлини, а також її метастазування. В мітохондріях злоякісно перероджених клітин, у деяких випадках, спостерігається підвищення  $[\text{Ca}^{2+}]_m$  та посилення генерації АФК [61, 62].

Існують дані, що  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер,  $\text{Na}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -та  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінники, VDAC мітохондрій широко задіяні в онкогенному процесі. Показана надекспресія гена MCU при раку молочної залози, але зменшення його активності за злоякісного переродження тканин товстої кишки та простати. Рівні експресії гена протеїна VDAC1 корелюють із несприятливим прогнозом при злоякісних захворюваннях [61, 62]. Виявлено також, що в багатьох типах пухлин, у тому числі і матки, експресія *Letm1* у клітинах є значно підвищеною [37, 46].

Інгібування відкривання пори перехідної проникності, зниження її чутливості до високих  $[\text{Ca}^{2+}]_m$  і АФК, також є ключовим моментом у канцерогенезі. Одним із механізмів

гальмування пори є зростання експресії гена протеїна гексокінази 2 у пухлинних клітинах; її видалення із мітохондрій спричиняє апоптоз багатьох їх типів. Низка підходів протипухлинної терапії ґрунтуються саме на індукції відкривання мітохондріальної пори перехідної проникності [63].

Отже, онкогенна трансформація клітин пов'язана зі зміною експресії або аномальною регуляцією  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів та транспортерів мітохондрій. Тому перспективним напрямком є розробка терапевтичних підходів, спрямованих на зміну функціональної активності систем мітохондріального транспорту  $\text{Ca}^{2+}$ , для ініціації загибелі злоякісних клітин [61, 62].

Описано низку патологій, пов'язаних із мутаціями в генах  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальних систем мітохондрій. При мутації гена *MICU1*, регуляторного протеїна UNIPLEX, спостерігається захворювання, що характеризується проксимальною міопатією, труднощами у навчанні і прогресивним екстрапірамідальним розладом рухів. У фіброблестах пацієнтів з *MICU1*-мутаціями акумуляція  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями при низьких  $[\text{Ca}^{2+}]_e$  була збільшена [64]. Показано, що делеція гена *MICU1* супроводжується ранньою стомлюваністю та млявістю [65]. М'язова дистрофія та центральоядерна міопатія, при яких виявлено порушення  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу мітохондрій, також можуть бути асоційовані з дефіцитом *MICU1* [64].

Делеція гена *Letm1*, який забезпечує  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмін, показана у пацієнтів з синдромом Wolf-Hirschhorn – захворювання, що характеризується затримкою у рості, розумовою відсталістю, мікроцефалією, порушенням м'язового тону, гіпотонією, епілептичними судомою. Виникнення останніх пояснюється зменшенням синтезу АТФ в мітохондріях нейронів, наслідком чого є зниження поляризації їх плазматичної мембрани та порогу збудження нейрона [2, 37, 43].

Універсальність іонів  $\text{Ca}^{2+}$  як сигнального

і регуляторного фактора зумовлює його значення у розвитку численних патологій, пов'язаних із порушенням  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу. Через це аномалії у роботі  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальних систем мітохондріальних мембран лежать в основі багатьох захворювань, як-от нейродегенеративні процеси, туморогенез, серцево-судинні порушення тощо. Отже, пошук специфічних корегувальних засобів впливу на ці системи може бути ефективним напрямком створення ліків.

## ВИСНОВКИ І ПЕРСПЕКТИВИ

Поряд із забезпеченням  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного енергетичного метаболізму та ключовою роллю  $\text{Ca}^{2+}$ -перевантаження мітохондрій у запуску процесу запрограмованої смерті, фундаментальне значення для фізіології клітини має процес контролю  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу та термінація  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу цими субклітинними структурами.

Обмін іонів Са через внутрішню мембрану мітохондрій забезпечується низкою транспортних систем, основні з яких  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер,  $\text{Na}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ - та  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінники. На відміну від  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера, властивості  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника мітохондрій, в тому числі і клітин гладеньких м'язів, недостатньо досліджені. Більш ретельного вивчення потребує також молекулярна структура  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальних систем мітохондрій та їх макромолекулярних комплексів, зокрема  $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортера, системи «швидкого кальцієвого входу» та мітохондріального ріанодинового рецептора. Значної уваги вимагає проблема взаємоузгодженого транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  на рівні мітохондрій, плазматичної мембрани та сарко/ендоплазматичного ретикулума.

Оскільки мітохондрії, як описано вище, відіграють суттєву роль в регуляції  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу, порушення в експресії або активності  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортувальних систем призводить до численних патологій. Отже, пошук фармакологічних інструментів корекції функціональної активності цих струк-

тур та  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних процесів (утворення АТФ, генерація АФК) є перспективними напрямками подальших досліджень фізіологів, фармакологів та біохіміків.

**О.В. Коломиец, Ю.В. Данилович,  
А.В. Данилович, С.О. Костерин**

## ПУТИ И МЕХАНИЗМЫ ТРАНСМЕМБРАННОГО ОБМЕНА $\text{Ca}^{2+}$ В МИТОХОНДРИЯХ

В обзоре проанализированы данные литературы о системах транспорта ионов Са в митохондриях и приведены некоторые собственные результаты экспериментов, проведенных на гладкой мышце матки (миометрий). А именно, описаны системы митохондриального  $\text{Ca}^{2+}$ -унипортера, «быстрого кальциевого входа», митохондриального рианодинового рецептора,  $\text{Na}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ - и  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обменников, митохондриальной поры переходной проводимости. Рассмотрено возможная функциональная роль ионов кальция в митохондриях, и их значение в поддержании  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазы клеток. Обсуждаются особенности трансмембранного обмена  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях при различных патологиях.

Ключевые слова: митохондрии;  $\text{Ca}^{2+}$ -унипортер; «быстрый кальциевый вход»; митохондриальный рианодиноновый рецептор;  $\text{Na}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обменник;  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обменник; митохондриальная пора переходной проводимости; гладкая мышца; миометрий.

**O.V. Kolomiets, Yu.V. Danylovych,  
H.V. Danylovych, S.O. Kosterin**

## WAYS AND MECHANISMS OF TRANSMEMBRANE EXCHANGE OF $\text{Ca}^{2+}$ IN MITOCHONDRIA

The review analyzed published data about transport of ions of calcium in the mitochondria and presented some own results of experiments conducted on the smooth muscle of the uterus (myometrium). In particular, it was described the systems of mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$ -uniporter, «rapid mode uptake», mitochondrial ryanodine receptor,  $\text{Na}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ - and  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -exchangers, mitochondrial permeability transition pore. The possible functional role of  $\text{Ca}^{2+}$  in mitochondria and their significance in maintaining of cell's  $\text{Ca}^{2+}$ -homeostasis have been considered. The features of transmembrane exchange of  $\text{Ca}^{2+}$  in mitochondria for various pathologies was discussed. Keywords: mitochondria;  $\text{Ca}^{2+}$ -uniporter; «rapid mode uptake»; mitochondrial ryanodine receptor;  $\text{Na}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -exchanger;  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -exchanger; mitochondrial permeability transition pore; smooth muscle; myometrium.

*Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv; e-mail: danylovych@biochem.kiev.ua*



## REFERENCES

- Kostyuk PG, Kostyuk OP, Lukyanets EA. Intracellular calcium signaling: structures and functions. Kiev: Nauk. Dumka; 2010. [Ukrainian].
- Santo-Domingo J, Demaurex N. Calcium uptake mechanisms of mitochondria. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1797(6-7):907-12.
- Kosterin SA, Burdyga ThV. Transport and intracellular homeostasis of  $\text{Ca}^{2+}$  in myometrium. *Biol Bul Rev*. 1993;113(4):485-506. [Russian].
- Bernardi P, Rasola A. Calcium and cell death: the mitochondrial connection. *Subcell Biochem*. 2007;45:481-506.
- Chalmers S, Nicholls DG. The relationship between free and total calcium concentrations in the matrix of liver and brain mitochondria. *J Biol Chem* 2003;278(21):19062-70.
- Rizzuto R., Marchi S., Bonora M., Aguiary P., Bononi A.  $\text{Ca}^{2+}$  transfer from the ER to mitochondria: When, how and why. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1787(11):1342-51.
- Graier WF, Frieden M, Malli R.. Mitochondria and  $\text{Ca}^{2+}$  signaling: old quests, new functions. *Eur J Physiol*. 2007;455(3):375-96.
- Takeuchi A, Kim B, Matsuoka S. The destiny of  $\text{Ca}^{2+}$  released by mitochondria. *J Physiol Sci*. 2015;65(1):11-24.
- Gunter TE, Pfeiffer DR. Mechanisms by which mitochondria transport calcium. *Am J Physiol*. 1990;258(5 Pt 1):C755-86.
- DeLuca HF, Engstrom GW. Calcium uptake by rat kidney mitochondria. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1961;47(11):1744-1750.
- Lehninger A. L, Rossi CS, Greenawalt JW. Respiration-dependent accumulation of inorganic phosphate and Ca ion by rat liver mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun*. 1963;10(3):444-8.
- Carafoli E, Rossi CS, Lehninger AL. Uptake of adenine nucleotides by respiring mitochondria during active accumulation of  $\text{Ca}^{2+}$  and phosphate. *J Biol Chem*. 1965;240(5):2254-61.
- Kosterin SO. Transport of calcium in the smooth muscles. Kiev: Nauk. Dumka; 1990. [Russian].
- Pan S, Ryu S-Y, Sheu S-S. Distinctive characteristics and functions of multiple mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  influx mechanisms. *Sci China Life Sci*. 2011;54(8):763-9.
- Szabadkai G, Duchen MR. Mitochondria: The Hub of Cellular  $\text{Ca}^{2+}$  Signaling. *Physiol*. 2008; 23(2):84-94.
- Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers, and permeability transition. *Physiol Rev*. 1999;79(4):1127-55.
- Malli R, Graier WF. Mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  channels: Great unknowns with important functions. *FEBS Lett*. 2010;584(10):1942-7.
- Feissner RF, Skalska J, Gaum WE, Sheu SS. Crosstalk signaling between mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  and ROS. *Front Biosci*. 2009;14:1197-218.
- Veklich TO. Transport of  $\text{Ca}^{2+}$  in the smooth muscle cells mitochondria: Manuscript. Kiev: Palladin Institute of Biochemistry of the NASU; 2003. [Ukrainian].
- Ryu SY, Beutner G, Dirksen RT, Kinnally KW, Sheu SS. Mitochondrial ryanodine receptors and other mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  permeable channels. *FEBS Lett*. 2010;584(10):1948-55.
- Gunter TE, Yule DI, Gunter KK, Eliseev RA, Salter JD. Calcium and mitochondria. *FEBS Letters*. 2004;567(1):96-102.
- Hoppe UC. Mitochondrial calcium channels. *FEBS Lett*. 2010;584(10):1975-81.
- Csordás G, Várnai P, Golenár T, Sheu S-S, Hajnóczky G. Calcium transport across the inner mitochondrial membrane: molecular mechanisms and pharmacology. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 353(1-2):109-13.
- Akopova OV, Sahach VF. The influence of nitric oxide donors on  $\text{Ca}^{2+}$ -uptake in rat heart and liver mitochondria. *Ukr Biokhim Zh*. 2005;77(2):82-7. [Russian].
- Danylovych YuV, Kolomiets' OV, Danylovych GV, Kosterin SO. Nitric oxide as a possible regulator of energy-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  transport in mitochondria of uterine smooth muscle. *Fiziol Zh*. 2014;60(2):12-7. [Ukrainian].
- Kolomiets OV, Danylovych YuV, Danylovych GV, Kosterin SO.  $\text{Ca}^{2+}$  accumulation study in isolated smooth muscle mitochondria using Fluo-4 AM. *Ukr Biokhim Zh* 2013;85(4):30-9. [Ukrainian].
- Kolomiets' OV, Danylovych YuV, Danylovych GV, Kosterin SO.  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -exchange in myometrium mitochondria. *Ukr Biochem J*. 2014;86(3):41-8. [Ukrainian].
- Foskett JK, Philipson B. The Mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  Uniporter Complex. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;78:3-8.
- De Stefani D, Patron M, Rizzuto R. Structure and function of the Mitochondrial Calcium Uniporter complex. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1853(9):2006-11.
- Santo-Domingo J, Wiederkehr A, De Marchi U. Modulation of the matrix redox signaling by mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$ . *World J Biol Chem*. 2015;6(4):310-23.
- Baughman JM, Perocchi F, Girgis HS, Plovanich M, Belcher-Timme CA, Sancak Y, Bao XR, Strittmatter L, Goldberger O, Bogorad RL, Kotliansky V, Mootha VK. Integrative genomics identifies MCU as an essential component of the mitochondrial calcium uniporter. *Nature*. 2011;476(7360):341-5.
- Bernardi P, von Stockum S. The permeability transition pore as a  $\text{Ca}^{2+}$  release channel: New answers to an old question. *Cell Calcium*. 2012;52(1):22-7.
- Rasola A, Bernardi P. Mitochondrial permeability transition in  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent apoptosis and necrosis. *Cell Calcium*. 2011;50(3):222-33.
- Kursky MD, Kosterin SA, Burchinskaya NF, Shlykov SG. Passive transport of  $\text{Ca}^{2+}$  into fractions of myometrium mitochondria. *Ukr Biokhim Zh*. 1987;59(3):35-9. [Russian].
- Kolomiets' OV, Danylovych YuV, Danylovych GV.  $\text{H}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -exchanger in the myometrium mitochondria: modulation of exogenous and endogenous compounds. *Fiziol Zh*. 2014;60(5):33-42. [Ukrainian].
- Palty R, Hershfinkel M, Sekler I. Molecular Identity and Functional Properties of the Mitochondrial  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$  Exchanger. *J Biol Chem*. 2012;287(38):31650-7.

37. Nowikovsky K, Pozzan T, Rizzuto R, Scorrano L, Bernardi P. The pathophysiology of LETM1. *J Gen Physiol.* 2012;139(6):445-54.
38. Jiang D, Zhao L, Clapham DE. Genome-wide RNAi screen identifies Letm1 as a mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  antiporter. *Science.* 2009;326(5949):144-7.
39. Vinogradov AD. Energy transduction in mitochondria. *Soros Educ J.* 1999 (9):11-19.
40. Wingrove DE, Gunter TE. Kinetics of mitochondrial calcium transport. I. Characteristics of the sodium-independent calcium efflux mechanism of liver mitochondria. *J Biol Chem.* 1986;261(32):15159-65.
41. Vovkanych LS, Dubytsky LO. Kinetical properties of the  $\text{H}^{+}$ -stimulated rat liver mitochondria  $\text{Ca}^{2+}$  efflux. *Exp Clin Physiol Biochem* 2001;15(3):34-37. [Ukrainian].
42. Tsai MF, Jiang D, Zhao L, Clapham D, Miller C. Functional reconstitution of the mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  antiporter Letm1. *J Gen Physiol.* 2014;143(1):67-73.
43. Schlickum S, Moghekar A, Simpson JC, Steglich C, O'Brien RJ, Winterpacht A, Ende S. LETM1, a gene deleted in Wolf-Hirschhorn syndrome, encodes an evolutionarily conserved mitochondrial protein. *Genomics.* 2004;83(2):254-61.
44. Dimmer KS, Navoni F, Casarin A, Trevisson E, Ende S, Winterpacht A, Salvati L, Scorrano L. LETM1, deleted in Wolf-Hirschhorn syndrome is required for normal mitochondrial morphology and cellular viability. *Hum Mol Genet.* 2008;17(2):201-14.
45. Shao J, Fu Z, Ji Y, Guan X, Guo S, Ding Z, Yang X, Cong Y, Shen Y. Leucine zipper-EF-hand containing transmembrane protein 1 (LETM1) forms a  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  antiporter. *Sci Rep.* 2016;6:34174.
46. Piao L, Li Y, Kim SJ, Byun HS, Huang SM. Association of LETM1 and MRPL36 contributes to the regulation of mitochondrial ATP production and necrotic cell death. *Cancer Res.* 2009;69(8):3397-404.
47. Doonan PJ, Chandramoorthy HC, Hoffman NE, Zhang X, Cárdenas C, Shanmughapriya S, Rajan S, Vallem S, Chen X, Foskett JK, Cheung JY, Houser SR, Madesh M. LETM1-dependent mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  flux modulates cellular bioenergetics and proliferation. *FASEB J.* 2014;28(11):4936-49.
48. Akopova OV. The role of permeability transition pore in transmembrane  $\text{Ca}^{2+}$ -exchange in mitochondria. *Ukr Biokhim Zh.* 2008;80(3):40-47. [Ukrainian].
49. Llorente-Folch I, Rueda CB, Pardo B, Szabadkai G, Duchon MR, Satrustegui J. The regulation of neuronal mitochondrial metabolism by calcium. *J Physiol.* 2015;593(16):3447-62.
50. Giulivi C, Kato K, Cooper CE. Nitric oxide regulation of mitochondrial oxygen consumption I: cellular physiology. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;291(6):C1225-31.
51. Danylovych YuV, Karakhim SA, Danylovych HV, Kolomiets OV, Kosterin SO. Electrochemical potential of the inner mitochondrial membrane and  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis of myometrium cells. *Ukr Biochem J.* 2015;87(5):61-71.
52. Campos JC, Bozi LH, Bechara LR, Lima VM, Ferreira JC. Mitochondrial Quality Control in Cardiac Diseases. *Front Physiol.* 2016;7:479.
53. El-Hattab AW, Scaglia F. Mitochondrial Cardiomyopathies. *Front Cardiovasc Med.* 2016;3:25.
54. Picard M, Wallace DC, Burelle Y. The rise of mitochondria in medicine. *Mitochondrion.* 2016;30:105-16.
55. Tocchi A, Quarles EK, Basisty N, Gitari L, Rabinovitch PS. Mitochondrial dysfunction in cardiac aging. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1847(11):1424-33.
56. Niyazov DM, Kahler SG, Frye RE. Primary Mitochondrial Disease and Secondary Mitochondrial Dysfunction: Importance of Distinction for Diagnosis and Treatment. *Mol Syndromol.* 2016;7(3):122-37.
57. Pathak D, Berthet A, Nakamura K. Energy failure: does it contribute to neurodegeneration? *Ann Neurol.* 2013;74(4):506-16.
58. Cali T, Ottolini D, Brini M. See comment in PubMed Commons belowCell Calcium. Mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  and neurodegeneration. *Cell Calcium.* 2012;52(1):73-85.
59. Görlach A, Bertram K, Hudecova S, Krizanova O. Calcium and ROS: A mutual interplay. *Redox Biol.* 2015;6:260-71.
60. Maléth J, Hegyi P.  $\text{Ca}^{2+}$  toxicity and mitochondrial damage in acute pancreatitis: translational overview. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2016;371(1700 ).
61. Cui C, Merritt R, Fu L, Pan Z. Targeting calcium signaling in cancer therapy. *Acta Pharm Sin B.* 2017;7(1):3-17.
62. Rimessi A, Patergnani S, Bonora M, Wieckowski MR, Pinton P. Mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  Remodeling is a Prime Factor in Oncogenic Behavior. *Front Oncol.* 2015;5:143.
63. Rasola A, Bernardi P. The mitochondrial permeability transition pore and its adaptive responses in tumor cells. *Cell Calcium.* 2014; 56(6): 437-445.
64. Logan CV, Szabadkai G, Sharpe JA et al. Loss-of-function mutations in MICU1 cause a brain and muscle disorder linked to primary alterations in mitochondrial calcium signaling. *Nat Genet.* 2014;46(2):188-93.
65. Lewis-Smith D, Kamer KJ, Griffin H. Homozygous deletion in MICU1 presenting with fatigue and lethargy in childhood. *Neurol Genet.* 2016;2(2):e59.

*Матеріал надійшов до редакції 27.01.2017*