

# Вплив ацетилхоліну та холецистокиніну на адаптаційну здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози

О.О. Білонога, Б.О. Манько, В.В. Манько

Львівський національний університет імені Івана Франка; e-mail: olha.sidorova@lnu.edu.ua

*Вивчали базальне і FCCP-стимульоване дихання ацинарних клітин підшлункової залози щурів за допомогою електрода Кларка. Адаптаційну здатність мітохондрій оцінювали за максимальною швидкістю роз'єданого дихання та оптимальною концентрацією FCCP. Під впливом ацетилхоліну та холецистокиніну базальна швидкість дихання зростала за наявності у середовищі глюкози (на 16 і 25 %), а також суміші глюкози з піруватом (на 36 і 37 %) чи глутаміном (на 21 і 29 % відповідно), але не з монометилсукцинатом чи диметил- $\alpha$ -кетоглутаратом. Агоністстимульоване збільшення максимальної швидкості роз'єданого дихання зареєстроване лише за окиснення суміші глюкози та пірувату: у разі дії ацетилхоліну від 2,32 у контролі до 3,62 відн. од., а холецистокиніну - до 3,19 відн. од. Оптимальна концентрація FCCP збільшувалася лише у разі дії холецистокиніну за наявності у середовищі інкубації суміші глюкози та пірувату - від 1,17 до 1,33 мкмоль/л. Отже, адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози під впливом первинних агоністів збільшується і в основі лежить інтенсифікація окиснення пірувату, а не інших досліджуваних субстратів окиснення.*

*Ключові слова: панкреатичні ацинуси; максимальна швидкість роз'єданого дихання; оптимальна концентрація FCCP; ацетилхолін; холецистокинін; субстрати окиснення.*

## ВСТУП

Ацинарні клітини підшлункової залози багаті на мітохондрії, які здатні динамічно реагувати на енергетичні потреби. Мітохондрії у клітині забезпечують не лише синтез АТФ через окисне фосфорилування, а й інші процеси життєдіяльності. У клітинах з високою інтенсивністю секреції вони є потужним джерелом пластичних речовин для синтезу секреторних продуктів. Коли клітина знаходиться у фазі активної секреторної відповіді, потреби в енергетичних ресурсах та пластичних речовинах суттєво зростають. В ацинарних клітинах підшлункової залози первинні агоністи спричиняють деполяризацію внутрішньої мембрани мітохондрій [1,2], підвищують вміст НАДН у їхньому матриксі [3], збільшують цитозольну концентрацію АТФ [4] та інтенсифікують дихання [5].

Швидкість дихання мітохондрій різних клітин залежить, від різних чинників: інтенсивності гліколізу, циклу трикарбонових кислот та  $\beta$ -окиснення жирних кислот, процесів переамінування і дезамінування, вмісту проміжних сполук, які можуть залучатися до подальшого окиснення, від вмісту окиснених та відновлених форм НАД та ФАД, кількості та співвідношення різних компонентів дихального ланцюга та ферментів матриксу мітохондрій. Для ацинарних клітин підшлункової залози було показано, що  $\text{Ca}^{2+}$  відіграє не останню роль в активації процесів дихання [4,5,6,10], а також під час запуску секреторної відповіді генерація цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу та інтенсифікація використання АТФ призводять до активації у матриксі мітохондрій НАД-залежних дегідрогеназ [2,4]. Але роль тих чи інших субстратів окиснення (і відповідних мета-

болічних шляхів) у забезпеченні адаптаційної здатності мітохондрій таких клітин під час функціонального навантаження залишається не до кінця з'ясованою.

Одним зі способів оцінки функціонального стану мітохондрій є визначення їхньої максимальної швидкості дихання за допомогою протонофора FCCP, який деполяризує мембрану мітохондрій і активує максимальну компенсаторну реакцію дихального ланцюга [7]. Для цього після реєстрації базальної швидкості мітохондріального дихання кілька разів додають FCCP - до того як швидкість не стане максимальною [8]. Фактично застосування FCCP дає змогу змоделювати певний рівень функціонального навантаження на мітохондрії.

Мета нашої роботи - встановити, як змінюються адаптаційна здатність мітохондрій (максимальна швидкість роз'єданого дихання та оптимальна концентрація FCCP) під впливом дії агоністів за окиснення різних субстратів.

## МЕТОДИКА

Досліди виконували на білих нелінійних щурах-самцях масою 200-300 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Всі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Суспензію ізольованих панкреатичних ацинусів отримували з використанням колагенази (тип 4, 220 од./мл) [9]. Життєздатність клітин, оцінена за допомогою тесту з трипановим синім (0,1 %), становила понад 93 %. Клітини рахували за допомогою камери Горяєва. Швидкість споживання кисню визначали полярографічним методом з використанням установки, зібраної на базі електрода Кларка, полярографа (YSI 5300, США), цифрового вольтметра, комп'ютера, скляної термостатованої (37 °C) закритої комірки об'ємом 1,6 мл та пропелерної

мішалки. Швидкість дихання розраховували, вважаючи, що в 1 мл розчинено 200 нмоль O<sub>2</sub>.

Ізольовані ацинуси отримували і зберігали у середовищі виділення, що містило (ммоль/л): NaCl - 140,0, KCl - 4,7, CaCl<sub>2</sub> - 1,3, MgCl<sub>2</sub> - 1,0, HEPES - 10,0, глутамін - 2,0, піруват - 2,0, глюкоза - 10,0; БСА - 2,5 мг/мл; соєвий інгібітор трипсину - 0,1 мг/мл та суміш амінокислот для середовища MEM (minimal essential medium); pH 7,4. Вихідне середовище інкубації складалося (ммоль/л): NaCl - 140,0, KCl - 4,7, CaCl<sub>2</sub> - 1,3, MgCl<sub>2</sub> - 1,0, HEPES - 10,0, глюкоза - 10,0; БСА - 2,5 мг/мл та соєвий інгібітор трипсину - 0,1 мг/мл; pH 7,4. За потреби до нього додавали піруват, глутамін, монометилсукцинат чи диметил- $\alpha$ -кетоглутарат (в концентрації 2 ммоль/л).

За дії карбахоліну збільшується не тільки швидкість базального, але й FCCP-стимульованого дихання ацинарних клітин підшлункової залози, коли у середовищі була лише глюкоза [10]. У цих експериментах ми перевірили залежність впливу первинного антагоніста на швидкість FCCP-стимульованого дихання ацинарних клітин від субстрату окиснення. Застосували холецистокінін (0,5 нмоль/л) та ацетилхолін (4,5 мкмоль/л), які активують секрецію амілази ацинарними клітинами підшлункової залози [11]. Суспензію інтактних панкреатичних ацинусів інкубували впродовж 15 хв у базовому середовищі з додаванням лише субстратів окиснення (контроль), холецистокінін чи ацетилхолін, а потім вносили у полярографічну комірку. Швидкість дихання стимулювали протонофором FCCP у концентраціях 0,5, 1, 1,5, 2 мкмоль/л.

Усі реагенти, які використовували в експериментах, були високої чистоти і здебільшого виробництва фірми «Sigma-Aldrich» (США). Статистичні розрахунки проводили з використанням пакету програм Microsoft Office Excel і представляли у вигляді  $M \pm m$ . Вірогідність різниці між середніми арифметичними двох вибірок (P) визначали за критерієм t Стюдента. Кожен

експеримент повторювали не менше як на п'яти окремих препаратах ізольованих клітин, отриманих із різних тварин.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Швидкість базального дихання у стані спокою (у контролі) не залежала від субстрату окиснення і була у межах від  $0,85 \pm 0,09$  до  $1,0 \pm 0,14$  відн.од. Під впливом ацетилхоліну чи холецистокініну вона збільшувалася, але ступінь збільшення залежав від субстрату окиснення: за окиснення глюкози це збільшення становило 16 і 25 %, суміші глюкози та пірувату - 36 і 37 %, а глюкози та глутаміну - 21 і 29 % відповідно (рис. 1, б-г). Коли до полярографічної комірки додавали FCCP у концентрації 0,5 мкмоль/л, швидкість дихання ацинарних клітин статистично

вірогідно збільшувалася у разі використання глюкози (до  $1,82 \pm 0,30$  відн.од.). Подальше підвищення концентрації FCCP до 1 мкмоль/л лише незначно збільшило швидкість дихання (до  $1,86 \pm 0,37$  відн.од.). При використанні вищих концентрацій FCCP швидкість дихання зменшувалася щодо попередніх значень. На відміну від базального дихання, FCCP-стимульоване дихання у контролі суттєво зростало, коли вносили до глюкозовмісного середовища інші субстрати окиснення, що узгоджується із даними попереднього дослідження [8].

Для оцінки функціональної здатності мітохондрій панкреатитів у наведених вище дослідженнях ми використали два параметри - оптимальну концентрацію FCCP (встановлюють як середньоарифметичне значення концентрації, за якої спостерігають

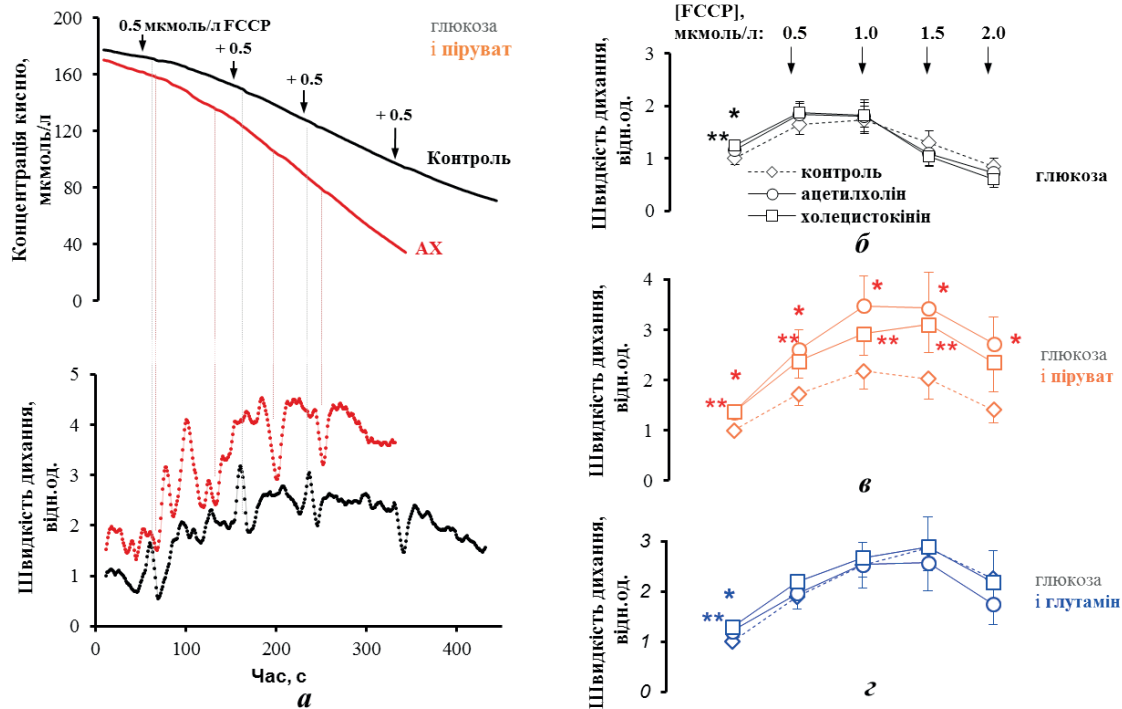


Рис. 1. Вплив первинних агоністів-активаторів секреції на швидкість дихання ацинарних клітин підшлункової залози залежно від субстрату окиснення: а - зменшення вмісту кисню у полярографічній комірці після внесення суспензії панкреатичних ацинусів (зверху) і розрахована миттєва швидкість дихання (знизу) за дії ацетилхоліну, коли у середовищі були піруват та глюкоза; б-г - швидкість FCCP-стимульованого дихання панкреатичних ацинусів за впливу ацетилхоліну (4,5 мкмоль/л) та холецистокініну (0,5 нмоль/л) та окиснення різних субстратів: глюкози (10 ммоль/л), пірувату і глутаміну (2 ммоль/л); результати нормалізовані до швидкості дихання за окиснення лише глюкози без додавання FCCP; \* P < 0,05 відносно контролю та за впливу ацетилхоліну, \*\* щодо впливу холецистокініну

максимальну швидкість роз'єданого дихання) та власне максимальну швидкість роз'єданого дихання у кожному експерименті, незалежно від концентрації протонофору. Так, у разі використання глюкози оптимальна концентрація FCCP становила у стані спокою  $0,82 \pm 0,08$  мкмоль/л, а максимальна швидкість дихання -  $1,85 \pm 0,35$  відн.од. (таблиця). Коли у середовищі з глюкозою або глютаміном знаходились ацетилхолін або холецистокінін, оптимальна концентрація FCCP та максимальна швидкість роз'єданого дихання статистично вірогідно не відрізнялися від контрольних значень (таблиця).

Внаслідок додавання ацетилхоліну та холецистокініну до середовища інкубації FCCP-стимульоване дихання панкреатичних ацинусів інтенсифікувалося лише у разі окиснення суміші глюкози і пірувату (див. рис. 1, а, в). Наразі максимальна швидкість

роз'єданого дихання під впливом ацетилхоліну та холецистокініну збільшилася на 56 і 37,5% відповідно порівняно з контролем (див. таблицю). Але оптимальна концентрація FCCP дещо підвищувалася лише у разі дії холецистокініну.

Далі ми з'ясували, чи змінюється максимальна адаптаційна здатність мітохондрій внаслідок дії агоністів на ацинарні клітини підшлункової залози за окиснення двох субстратів циклу Кребса - сукцинату та  $\alpha$ -кетоглутарату. У попередній нашій праці [8] було встановлено, що швидкості дихання ацинарних клітин підшлункової залози збільшуються, якщо сукцинат або  $\alpha$ -кетоглутарат у середовищі інкубації замінити на їхні мембранопроникні метилові ефіри - монометилсукцинат і диметил- $\alpha$ -кетоглутарат.

З'ясувалося, що коли у середовищі знаходилися суміш глюкози та монометил-

**Оптимальна концентрація FCCP та максимальна швидкість роз'єданого дихання за різних екзогенних субстратів окиснення у спокої та під час активації секреції**

Умови визначення	Оптимальна [FCCP], мкмоль/л	Максимальна швидкість роз'єданого дихання, відн.од.
<b>Глюкоза</b>		
Контроль (n=11)	$0,82 \pm 0,08$	$1,85 \pm 0,35$
Ацетилхолін (n=11)	$0,73 \pm 0,08$	$1,95 \pm 0,27$
Холецистокінін (n=11)	$0,73 \pm 0,08$	$1,96 \pm 0,21$
<b>Глюкоза і піруват</b>		
Контроль (n=6)	$1,17 \pm 0,10$	$2,32 \pm 0,45$
Ацетилхолін (n=5)	$1,10 \pm 0,19$	$3,62 \pm 0,64^*$
Холецистокінін (n=6)	$1,33 \pm 0,10$	$3,19 \pm 0,53^*$
<b>Глюкоза і глютамін</b>		
Контроль (n=6)	$1,42 \pm 0,08$	$2,89 \pm 0,60$
Ацетилхолін (n=5)	$1,30 \pm 0,12$	$2,76 \pm 0,49$
Холецистокінін (n=6)	$1,42 \pm 0,08$	$2,91 \pm 0,46$
<b>Глюкоза і монометилсукцинат</b>		
Контроль (n=6)	$0,83 \pm 0,11$	$2,64 \pm 0,42$
Ацетилхолін (n=6)	$0,92 \pm 0,08$	$2,25 \pm 0,35$
Холецистокінін (n=6)	$1,00 \pm 0,00$	$2,70 \pm 0,29$
<b>Глюкоза і диметил-<math>\alpha</math>-кетоглутарат</b>		
Контроль (n=6)	$1,00 \pm 0,00$	$2,36 \pm 0,33$
Ацетилхолін (n=6)	$1,00 \pm 0,00$	$2,54 \pm 0,35$
Холецистокінін (n=6)	$0,92 \pm 0,08$	$2,72 \pm 0,46$

сукцинату, швидкість базального чи FCCP-стимульованого дихання ацинарних клітин підшлункової залози за дії агоністів не відрізнялася від контролю (рис. 2, б). Оптимальна концентрація та максимальна швидкість дихання за впливу агоністів збігалася з контрольними значеннями (див. таблицю). Це ж повторилося і для  $\alpha$ -кетоглутарату (див. рис. 2, в, таблицю)

Механізми внутрішньоклітинної трансдукції сигналу повинні забезпечувати не лише прямі зв'язки, реалізація яких активує клітини, а також випереджувальні, щоб підготувати клітину до передбачуваного збільшення енерговитрат (рис. 3). Будь-яка жива система повинна дещо випереджувати зміни середовища. Така стратегія дає змогу підтримувати енерговитрати на мінімально

допустимому рівні за відсутності дії зовнішніх чинників і достатньо ефективно підвищувати продукцію енергії за найменшої потреби.

Немає потреб підтримувати високий рівень окисного фосфорилування у мітохондріях постійно, коли, зокрема, ацинарні клітини перебувають у стані фізіологічного спокою. Але з переходом їх у діяльний стан енергопродукція повинна зростати паралельно витратам енергії. Це підтверджено іншими авторами: стимуляція ацинарних клітин підшлункової залози холецистокініном спричиняє дозозалежну, але нетривалу деполаризацію мітохондрій [2]. Одночасно холецистокінін та ацетилхолін індукують стійке збільшення вмісту АТФ у цитозолі, яке запобігається інгібіторами електронно-транспортного ланцюга мітохондрій [4].

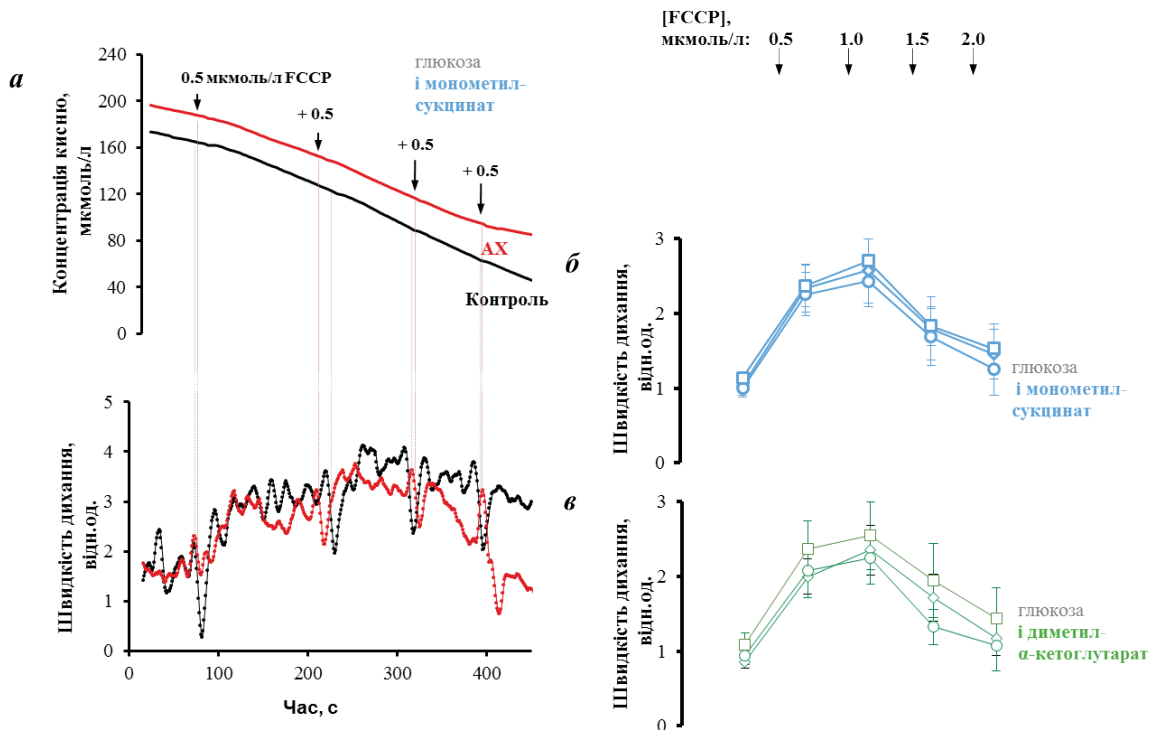


Рис. 2. Швидкість дихання ацинарних клітин підшлункової залози у разі дії первинних агоністів залежно від субстрату окиснення: а - зменшення вмісту кисню у полярографічній комірці після внесення суспензії панкреатичних ацинусів (зверху) і розрахована миттєва швидкість дихання (знизу) за дії ацетилхоліну, коли у середовищі були монометилсукцинат та глюкоза; б, в - вплив на швидкість FCCP-стимульованого дихання панкреатичних ацинусів ацетилхоліну (4,5  $\mu\text{M}/\text{l}$ ) та холецистокініну (0,5  $\mu\text{M}/\text{l}$ ) за окиснення різних субстратів: глюкози (10  $\text{mM}/\text{l}$ ), монометилсукцинату і диметил- $\alpha$ -кетоглутарату (2  $\text{mM}/\text{l}$ ); результати нормалізовані до швидкості дихання за окиснення лише глюкози без додавання FCCP (n = 6)

Зростає також і швидкість дихання за стимуляції первинними агоністами, як це було показано для їхнього аналога - карбахоліну [10]. В інших клітинах також відомі факти підвищення максимальної швидкості FCCP-стимульованого дихання зі зміною функціонального стану. Так, під час диференціації «наївних» Т-клітин у клітини пам'яті ця швидкість суттєво зростала, що підвищувало їх виживання та забезпечує швидке реагування на збудник [12].

В ацинарних клітинах підшлункової залози шурів експресуються М3-холінорецептори [13] і ССК1-рецептори до холецистокініну [14]. Механізм їхньої внутрішньоклітинної трансдукції сигналу базується на активації  $G_{q/11}$ -білків та вивільнення депонованого  $Ca^{2+}$  [15]. Власне, генерація  $Ca^{2+}$ -сигналу і спричиняє активацію секреторної відповіді клітини і, очевидно, інтенсифіка-

цію енергопродукції опосередковано через активацію у матриксі мітохондрій НАДН-залежних дегідрогеназ. Відомо, що три ферменти у матриксі мітохондрій - піруват-ізоцитрат- і  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназа - є  $Ca^{2+}$ -залежними [16]. Тому слід очікувати, що в основі випереджувального зв'язку за активації секреції в ацинарних клітинах підшлункової залози лежить активація цих ферментів.

Цікаво, що вже базальна швидкість дихання ізольованих ацинусів підшлункової залози під впливом ацетилхоліну і холецистокініну статистично достовірно збільшилася (див. рис. 1) за окиснення глюкози, суміші глюкози і глутаміну чи, найсуттєвіше, глюкози і пірувату. Але, парадоксально, за наявності суміші глюкози і  $\alpha$ -кетоглутарату (субстрат  $Ca^{2+}$ -залежного фермента) статистично вірогідні зміни під впливом агоністів не були зареєстровані.

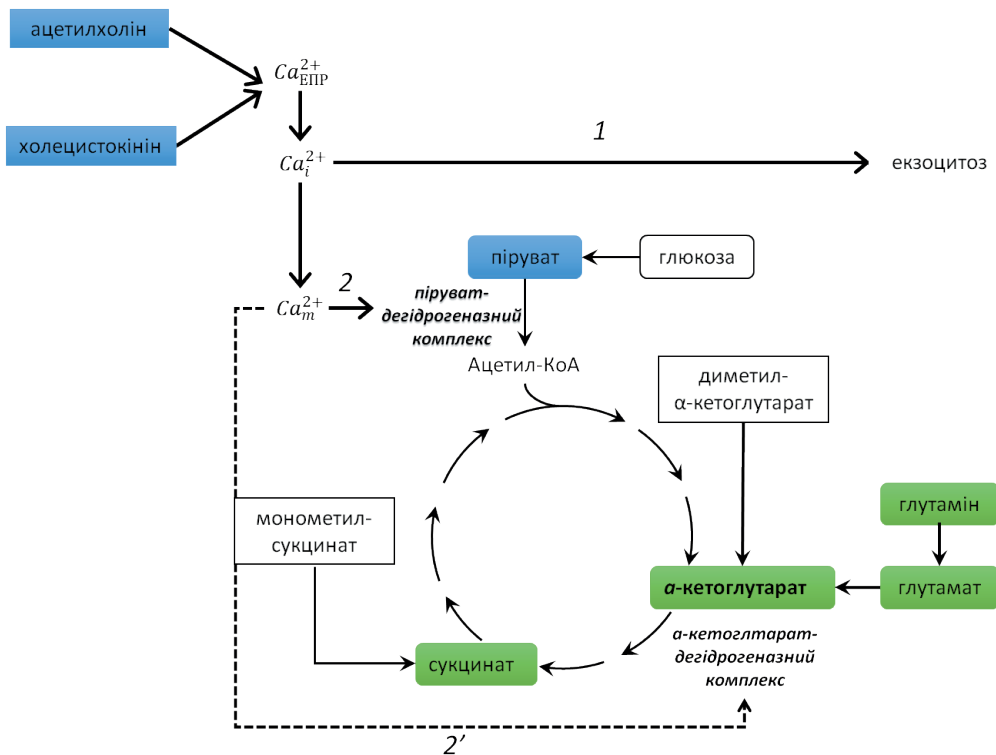


Рис. 3. Потенційна схема підвищення адаптаційної здатності мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози за дії первинних агоністів: 1 - прямий зв'язок, 2 - встановлений випереджувальний зв'язок, 2' - можливий, але не підтверджений експериментально випереджувальний зв'язок; -  $Ca^{2+}$ , депоновані в ендоплазматичному ретикулумі; та -  $Ca^{2+}$  в цитоплазмі та матриксі мітохондрій

Механізм  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної активації піруватдегідрогеназного комплексу відрізняється від таких механізмів інших мітохондріальних дегідрогеназ і на молекулярному рівні, і кінетично. Збільшення активності піруватдегідрогенази відображається у збільшенні максимальної швидкості ферментативної реакції ( $V_{\max}$ ), а не в зменшенні константи Міхаеліса ( $K_m$ ), як це характерно для ізоцитрат-та  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази [17]. Це підтверджується даними експериментів на пермеабілізованих ацинарних клітинах підшлункової залози, де внаслідок збільшення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у середовищі до 1 мкмоль/л суттєво підвищується  $V_{\max}$  залежності швидкості дихання від концентрації пірувату [5]. Оскільки не можна виявити зміну  $K_m$  за насичуючих концентрацій субстратів, збільшення швидкості базального чи FCCP-стимульованого дихання є наслідком (і свідчить про) збільшення  $V_{\max}$  ензиматичної реакції. Відтак збільшення швидкості дихання в умовах нашого дослідження можна зареєструвати, якщо дійсно збільшується  $V_{\max}$  під час генерації  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу, спричиненого первинними агоністами - холецистокініном та ацетилхоліном. Але, як би там не було, зменшення  $K_m$  ензиматичної реакції під впливом агоніста є суттєво важливішим у сигнальних системах, а збільшення  $V_{\max}$  - критично потрібним для інтенсифікації метаболічних процесів.

Використання протонофора FCCP дає змогу оцінити адаптаційну здатність мітохондрій - діапазон їхньої потенційної відповіді. Для формалізації її оцінки, ми розраховували площу під кривими залежності швидкості дихання у діапазоні досліджуваних концентрацій FCCP:

$$S = \int_0^2 v_i(C) \cdot dC,$$

де - швидкість дихання за певної концентрації FCCP,  $C$  - концентрація FCCP. Такий підхід дає можливість отримати інтегративну оцінку адаптаційної здатності мітохондрій,

яка враховує як максимальну швидкість роз'єднаного дихання, так і оптимальну концентрацію FCCP. З'ясувалося, що вона для ацинарних клітин у контролі (на тлі глюкози) зменшується у разі використання субстратів у такій послідовності: глутамін (4,46 ум.од. мкмоль/л) : сукцинат (3,98 ум.од. мкмоль/л) : піруват (3,57 ум.од. мкмоль/л) :  $\alpha$ -кетоглутарат (3,54 ум.од. мкмоль/л): глюкоза (2,88 ум.од. мкмоль/л). Така сама послідовність зберігається, коли діють секретогоги: площа під кривою залежності швидкості дихання від концентрації FCCP збільшується тільки при окисненні суміші пірувату і глюкози - до 5,78 та 5,14 ум.од. мкмоль/л для ацетилхоліну та холецистокініну відповідно. Отже, останні не просто стимулюють дихання ацинарних клітин підшлункової залози за окиснення пірувату, а збільшують адаптаційну здатність мітохондрій, і це лежить в основі реалізації випереджувального зв'язку в узгодженості енерговитрат і енергопродукції цих клітин. Визначальну роль у збільшенні адаптаційної здатності мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози відіграє активація піруватдегідрогеназного комплексу.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

**O.O. Bilonoha, B.O. Manko, V.V. Manko**

#### **THE EFFECTS OF ACETYLCHOLINE AND CHOLECYSTOKININE ON MITOCHONDRIAL ADAPTIVE CAPACITY OF PANCREATIC ACINAR CELLS**

Upon activation of secretion pancreatic acinar cells require sufficient amount of energy. It is not known which metabolic pathways supply mitochondrial adaptive capacity of acinar cells in active functional state. Basal and FCCP-stimulated respiration of rat pancreatic acini was measured with Clark electrode. Mitochondrial adaptive capacity was assessed by

maximal uncoupled respiration rate and optimal FCCP concentration. Upon acetylcholine or cholecystokinin stimulation, basal respiration rate increased in presence of glucose (by 16 or 25 %, respectively) or combinations of glucose with pyruvate (by 36 i 37 %), or glutamine (21 or 29 %), but not with monomethyl-succinate or dimethyl- $\alpha$ -ketoglutarate. Maximal uncoupled respiration rate increased only upon the oxidation of pyruvate with glucose; acetylcholine increased it from 2.32 r.u. to 3.62 r.u. and cholecystokinin - to 3.19 r.u. The optimal FCCP concentration increased only after stimulation with cholecystokinin - from 1.17 to 1.33  $\mu$ M. Thus, primary agonists increase adaptive capacity of pancreatic acinar cells' mitochondria via intensification of pyruvate oxidation, but not other tested substrates.

Key words: pancreatic acinus; maximal uncoupled respiration rate; optimal FCCP concentration; acetylcholine; cholecystokinin; oxidative substrates.

*Ivan Franko National University of Lviv;  
e-mail olha.sidorova@lnu.edu.ua*

**О.О. Билонога, Б.А. Манько, В.В. Манько**

### **ВЛИЯНИЕ АЦЕТИЛХОЛИНА И ХОЛЕЦИСТОКИНИНА НА АДАПТАЦИОННЫЙ ОТВЕТ АЦИНАРНЫХ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Регистрировали базальную и FCCP-стимулированную скорость дыхания ацинарных клеток поджелудочной железы крыс с помощью электрода Кларка. Адаптационный ответ митохондрий оценивали максимальной скоростью разобщенного дыхания и оптимальной концентрацией FCCP. Под влиянием ацетилхолина и холецистокинина базальная скорость дыхания увеличилась при наличии в среде глюкозы (на 16 и 25%), а также смеси глюкозы с пируватом (на 36 и 37%) или глутамином (на 21 и 29% соответственно), но не с монометилсукцинатом или диметил- $\alpha$ -кетоглутаратом. Агонист-стимулируемое увеличение максимальной скорости разобщенного дыхания зарегистрировано только при окислении смеси глюкозы и пирувата: от 2,32 в контроле до 3,62 отн.ед. под воздействием ацетилхолина или до 3,19 отн.ед.- под воздействием холецистокинина. Причем, оптимальная концентрация FCCP увеличилась только под воздействием холецистокинина при наличии в среде инкубации смеси глюкозы и пирувата - от 1,17 до 1,33 мкмоль/л. Итак, пределы адаптационного ответа митохондрий ацинарных клеток поджелудочной железы под влиянием первичных агонистов увеличиваются и в основе этого лежит интенсификация окисления пирувата, а не других мембранопроницаемых субстратов окисления. Ключевые слова: панкреатические ацинусы; максимальная скорость разобщенного дыхания; оптимальная концентрация FCCP; ацетилхолин; холецистокинин; субстраты окисления.

### **REFERENCES**

1. Raraty M, Ward J, Erdemli G, Vaillant C, Neoptolemos JP, Sutton R, Petersen O.H. Calcium-dependent enzyme activation and vacuole formation in the apical granular region of pancreatic acinar cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000 Nov 21;97(24):13126-31.
2. Voronina SG, Barrow SL, Gerasimenko OV, Petersen OH, Tepikin AV. Effects of secretagogues and bile acids on mitochondrial membrane potential of pancreatic acinar cells: comparison of different modes of evaluating DeltaPsi<sub>m</sub>. *J Biol Chem*. 2004 June 25;279(26):27327-38.
3. Voronina S, Sukhomlin T, Johnson PR, Erdemli G, Petersen OH, Tepikin A. Correlation of NADH and Ca<sup>2+</sup> signals in mouse pancreatic acinar cells. *J Physiol*. 2002 Feb 15;539(Pt 1):41-52.
4. Voronina SG, Barrow SL, Simpson AW. Dynamic changes in cytosolic and mitochondrial ATP levels in pancreatic acinar cells. *Gastroenterology*. 2010 Jan 25;138:1976-87.
5. Man'ko BO, Man'ko VV. Influence of Ca<sup>2+</sup> on kinetic parameters of pancreatic acinar mitochondria in situ respiration. *Ukr Biokhim Zh*. 2013 Jul-Aug;85(4):48-60. [Ukrainian].
6. Man'ko BO, Man'ko VV. Influence of adenosine diphosphate on respiration of rat pancreatic acinar cells mitochondria in situ. *Fiziol Zh*. 2013 59(5):61-70. [Ukrainian].
7. Brand MD, Nicholls DG. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. *Biochem J*. 2011 Apr 15;435:297-312.
8. Manko BO, Bilonoha OO, Manko VV. Adaptive respiratory response of rat pancreatic acinar cells to mitochondrial membrane depolarization. *Ukr Biochem J*. 2019 May; 91(3):34-45.
9. Manko BO, Klevets M. Yu, Manko V.V. An implication of novel methodology to study pancreatic acinar mitochondria under in situ conditions. *Cell Biochem Funct*. 2012 Aug 13;31(2):115-21.
10. Manko BO, Manko V.V. Mechanisms of respiration intensification of rat pancreatic acini upon carbachol-induced Ca<sup>(2+)</sup> release. *Acta Physiol (Oxf)*. 2013 Aug;208(4):387-99.
11. Li Ch, Chen X, Williams JA. Regulation of CCK-induced amylase release by PKC- in rat pancreatic acinar cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004 Oct 01;287:764-771.
12. Gerritje J.W. van der Windt, Bart Everts, Chih-Hao Chang, Jonathan D. Curtis, Tori C. Freitas, I Eyal Amiel, I Edward J. Pearce and Erika L. Pearce. Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8<sup>+</sup> T cell memory development. *Immunity*. 2012 January 27;36(1):68-78.
13. Louie DS and Owyang C. (1986) Muscarinic receptor subtypes on rat pancreatic acini: secretion and binding studies. *Am J Physiol*. 1986 Aug 1; 251:275-9.
14. Wank SA, Harkins R, Jensen RT, Shapira H, de Weerth A, and Slattery T. Purification, molecular cloning, and functional expression of the cholecystokinin receptor from rat pancreas. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992 Apr 1;89:3125-9.



15. Matozaki, T. & J. A. Williams. Multiple sources of 1,2-diacylglycerol in isolated rat pancreatic acini stimulated by cholecystokinin. J Biol Chem. 1989 September 5;264:14729-34.
16. Denton RM and McCormack JG. The calcium sensitive dehydrogenases of vertebrate mitochondria. 1986 December;7(5-6): 377-86.
17. McCormack JG, Halestrap AP, Denton RM. Role of calcium ions in regulation of mammalian intramitochondrial metabolism. Physiol Rev. 1990 Apr;70: 391-425.

*Матеріал надійшов  
до редакції 24.01.2019*