

УДК 612.313:577.352.468

**СИСТЕМИ ТРАНСПОРТУВАННЯ Ca^{2+} У СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ЛИЧИНКИ
*DROSOPHILA MELANOGASTER*****Т. Чорна, В. Манько, М. Клевець**

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: tanya0104@yandex.ru

На основі аналізу змін вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} ідентифіковано Ca^{2+} -транспортувальні системи у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Drosophila melanogaster*. Показано, що АТФ (0,1 і 1 ммоль/л) спричиняє статистично достовірне підвищення вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у тканині залоз. Причому АТФ-індуковане збільшення вмісту Ca^{2+} залежить від рівня цих іонів у позаклітинному середовищі. Це є підтвердженням наявності P2X- і P2Y-рецепторів на плазматичній мембрані секреторних клітин слинних залоз личинки. Ріанодин (500 нмоль/л) викликає статистично достовірне підвищення вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у слинних залозах, що свідчить про наявність ріанодинчутливих Ca^{2+} -каналів у мембрані ендоплазматичного ретикулу. Під впливом тапсигаргину (1 мкмоль/л) спостерігали достовірне зростання вмісту Ca^{2+} у тканині залоз, що вказує на функціонування Ca^{2+} -помпи в мембранах внутрішньоклітинного депо.

Ключові слова: кальцій, P2-рецептори, ріанодинчутливі Ca^{2+} -канали, Ca^{2+} -помпа, слинні залози, *Drosophila melanogaster*.

Іони Ca^{2+} є важливими вторинними внутрішньоклітинними месенджерами [7, 18], зростання концентрації яких у цитозолі активує різноманітні клітинні процеси – скорочення м'язів [1, 6, 11], секрецію ферментів, гормонів [3, 4, 12, 14] і медіаторів [15], ембріогенез [44], транскрипцію генів [25], апоптоз [28] тощо. У стані спокою цитозольна концентрація вільноіонізованого Ca^{2+} є надзвичайно низькою, хоча в позаклітинному просторі його рівень порівняно високий. Це досягається завдяки узгодженому функціонуванню різноманітних типів Ca^{2+} -транспортувальних систем (каналів, обмінників, pomp), які модулюють цитоплазматичний рівень іонів Ca^{2+} . Ca^{2+} -сигналізація є важливою умовою функціонування екзокринних клітин, особливо для регулювання процесу секреції макромолекул і рідини [13]. Стимуляція секреторних клітин за участю гормонів або нейротрансмітерів спричиняє виникнення Ca^{2+} -осциляцій, що є важливою формою внутрішньоклітинної Ca^{2+} -сигналізації [13]. Ca^{2+} -осциляції складаються зі серії короткочасних підвищень $[\text{Ca}^{2+}]_i$; (Ca^{2+} -спайків) [41]. Такий вид Ca^{2+} -сигналізації було показано для багатьох секреторних клітин різних типів, зокрема, для парієтальних клітин шлунка – за дії гістаміну, карбахолу або гастрину [20, 30], ацинарних клітин слинних і привушних залоз – за участю агоністів мускаринових [16, 23, 32] та адренергічних [23] рецепторів. В епітеліальних клітинах молочних залоз виявлені АТФ-індуковані та спонтанні Ca^{2+} -осциляції [24]. Наявність Ca^{2+} -осциляцій показана також у протокових [40] і ацинарних [35, 47] клітинах підшлункової залози.

Особливе місце у дослідженні механізмів підтримання Ca^{2+} -гомеостазу займають екзокринні епітеліальні клітини безхребетних тварин. Важливість Ca^{2+} -сигналізації показано у секреторних клітинах слинних залоз личинок і дорослих особин двокрилих, у

тому числі личинки *Chironomus plumosus* [8], дорослих особин *Calliphora vicina* і *Calliphora erythrocephala* [39, 46] та клітинах проток слинних залоз *Periplaneta americana* [26]. Також наявні численні дані про роль іонів Ca^{2+} у функціонуванні екскреторних органів дорослих особин *Drosophila melanogaster*, зокрема, мальпігієвих трубочок [21]. Нашими дослідженнями ідентифіковано потенціалкеровані Ca^{2+} -канали у слинних залозах личинки *Drosophila melanogaster* [10]. Проте залишається нез'ясованою роль у Ca^{2+} -сигналізації цих слинних залоз інших Ca^{2+} -транспортувальних систем, ідентифікація яких і була метою наших досліджень.

Дослідження проведені на слинних залозах личинки *Drosophila melanogaster* – парних прозорих мішкоподібних утворах, розміщених з боків глотки й оточених жировим тілом [2]. Про наявність Ca^{2+} -транспортувальних систем судили на підставі аналізу зміни вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у тканині ізольованих залоз, інкубованих у контрольному (базовому вихідному чи безкальцієвому) та дослідних розчинах протягом 15 хв при кімнатній температурі (18–20 °C). Базовий розчин містив (ммоль/л): NaCl – 146,46, KCl – 3,58, CaCl_2 – 3,15, Na_2HPO_4 – 0,35, KH_2PO_4 – 0,44, MgCl_2 – 1, глюкоза – 5,55; pH 7,2. Пуринові (P2X і P2Y) рецептори плазматичної мембрани активували за участю АТФ у концентраціях 0,1 та 1 ммоль/л. Для дослідження змін вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} під впливом блокатора Ca^{2+} -помпи мембрани ендоплазматичного ретикулу та саркомерину його додавали до базового розчину в концентраціях 1 і 10 мкмоль/л. Для ідентифікації ріанодинових рецепторів використовували ріанодин у концентраціях 5 і 500 нмоль/л.

Для визначення вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у тканині слинних залоз використовували хлортетрациклін. Він легко вбудовується у клітинні мембрани і його флуоресценція характеризується значною чутливістю до іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} . Причому при зв'язуванні з іонами Ca^{2+} у клітинних мембранах інтенсивність його флуоресценції зростає в 50–200 разів [19]. З хлортетрацикліном (2 мкмоль/л), який додавали до контрольного чи дослідного розчину, залози інкубували ще 25 хв. Після відмивання залоз від барвника визначали інтенсивність флуоресценції ($\lambda_f=480\text{--}530$ нм) у різних мікроділянках залози за допомогою люмінесцентного мікроскопа ЛЮМАМ-И-1 (Росія) за довжини збуджувального світла ($\lambda_{збуд}$) 380 нм. У полі зору фокусували лише одну слинну залозу; це давало змогу порівнювати інтенсивність флуоресценції Ca^{2+} -хлортетрациклінового комплексу в різноманітних її ділянках. Значення інтенсивності відрізнялися у сусідніх клітинах залози. Це може свідчити, що їхні Ca^{2+} -транспортувальні системи по-різному вносять вклад у процеси підтримання Ca^{2+} -гомеостазу. Зокрема, найбільшою інтенсивність флуоресценції була у ділянці плазматичної мембрани і ядра, тобто в місцях, багатих мембранними структурами.

Інтенсивність флуоресценції вимірювали за допомогою фотоелектронного помножувача ФМЭЛ-1. Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакету для персональних комп'ютерів *Microsoft Excel*, достовірність змін визначали за t-критерієм Стьюдента.

Зміни вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у секреторних клітинах слинних залоз личинки, які спричинені різними фізіологічними чинниками, є наслідком зміни функціональної активності певної Ca^{2+} -транспортувальної системи, чутливої до цього чинника. Оскільки гіперкалієва деполяризація плазматичної мембрани секреторних клітин слинних залоз личинки *Drosophila melanogaster* призводила до підвищення вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} на 51% [10], він визначається рівнем цього катіона, в першу чергу, у

внутрішньоклітинних депо, а не в позаклітинному середовищі (вмістом мембранозв'язаного Ca^{2+} з цитозольного боку мембран можна, на нашу думку, знехтувати).

Важливим позаклітинним месенджером, який опосередковує свій вплив через активацію P2-рецепторів плазматичної мембрани, є пуриновий нуклеотид АТФ [36]. Поряд зі збудливими клітинами, P2X- і P2Y-рецептори були ідентифіковані в багатьох незбудливих, зокрема, секреторних клітинах підшелепних, привушних і під'язикових залоз щурів [33, 42, 43], протокових клітинах підшлункової залози [27, 31], епітеліальних клітинах потових залоз коней [29], секреторних клітинах слинних залоз личинки *Chironomus plumosus* [9].

Для ідентифікації пуринових рецепторів у секреторних клітинах слинних залоз личинки *Drosophila* ми використали АТФ у різних концентраціях. Під впливом АТФ у концентрації 0,1 ммоль/л спостерігали незначне статистично достовірне підвищення мембранозв'язаного Ca^{2+} на 31% у слинних залозах, інкубованих у базовому вихідному середовищі (рис. 1).

Очевидно, це підвищення вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} спричинене надходженням цих іонів у клітину за участю P2X-рецепторів, що функціонують як Ca^{2+} -провідні канали в плазматичній мембрані [36]. Звичайно, одночасно активуються і P2Y-рецептори. Але за наявності іонів Ca^{2+} у позаклітинному середовищі під впливом АТФ переважають ті процеси, які ініціюються активацією P2X-рецепторів – надходженням Ca^{2+} у клітину та його депонуванням.

Цікавим виявився той факт, що АТФ у концентраціях 0,1 та 1 ммоль/л за інкубування слинних залоз личинки в безкальцієвому середовищі викликав неочікуване підвищення вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} на 19 і 16% відповідно (рис. 1). Ми припускали, що за таких умов АТФ активуватиме зв'язані з G-білком метаболічні P2Y-рецептори,

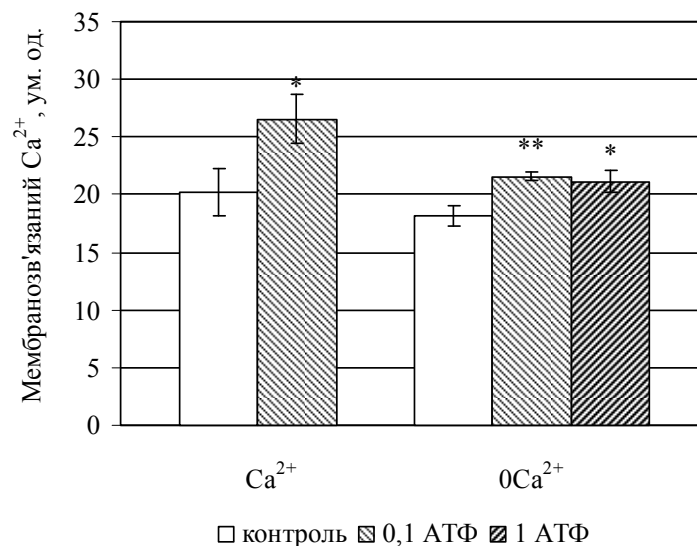


Рис. 1. Зміна вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у слинних залозах, інкубованих у Ca^{2+} -вмісному та безкальцієвому середовищах, під впливом АТФ: $[\text{Ca}^{2+}]_e=3,15$ і 0 ммоль/л відповідно, $[\text{АТФ}]=0,1$ або 1 ммоль/л; * – різниця порівняно з контролем достовірна з $P<0,05$, ** – з $P<0,01$; $n=6-10$.

а відтак генерацію інозитол-1,4,5-трифосфату (ІФ₃) за участю фосфоліпази С. У результаті зв'язування ІФ₃ із рецепторами на мембрані ендоплазматичного ретикулулу відбувається вивільнення іонів Ca²⁺ з внутрішньоклітинного депо, і вміст мембранозв'язаного Ca²⁺ повинен зменшитися. Тим не менше, в описаній серії дослідів АТФ спричиняє не зменшення вмісту Ca²⁺ у тканині залоз, а збільшення. Правда, відсоток АТФ-індукованого збільшення мембранозв'язаного Ca²⁺ у тканині залоз за відсутності іонів Ca²⁺ в позаклітинному середовищі є меншим. Очевидно, за таких умов рівновага під впливом АТФ зміщується, все-таки, до процесів вивільнення цих катіонів ІФ₃-чутливими Ca²⁺-каналами, спряженими із P2Y-рецепторами, хоча його надходження P2X-рецепторами у клітини ще переважає. Це може бути спричинене тим, що безкальцієвий розчин не містив жодних Ca²⁺-хелаторів, тому його безкальцієвість є умовною. Крім того, підвищення рівня мембранозв'язаного Ca²⁺ може бути наслідком його зачачування, за участю Ca²⁺-уніпортера, в мітохондрії, оскільки відомо, що ІФ₃-чутливі Ca²⁺-канали перебувають у тісному функціональному зв'язку з цими органелами [37].

Ріанодинчутливі Ca²⁺-канали – ще одна система, яка забезпечує вивільнення іонів Ca²⁺ із депо. Вони також широко експресуються в незбудливих тканинах, зокрема ацинарних клітинах привушних [38] і підщелепних [22] залоз щурів, слинних залозах личинки *Chironomus plumosus* [5], причому вплив ріанодину на функціонування цих рецепторів мембрани ендоплазматичного ретикулулу є подвійним. У наномольному діапазоні концентрацій він активує [17], а у мікромольному – інгібує [45] їхню активність. У процесі досліджень з'ясувалося, що ріанодин у концентрації 5 нмоль/л не викликав статистично достовірних змін вмісту мембранозв'язаного Ca²⁺ у тканині слинних залоз личинки *Drosophila melanogaster* (рис. 4).

На противагу цьому, ріанодин у концентрації 500 нмоль/л спричиняв статистично достовірне підвищення вмісту Ca²⁺ на 24% (рис. 4). Можливо, що за такої концентрації ріанодин інгібує активність ріанодинчутливих Ca²⁺-каналів, пригнічуючи вивільнення іонів Ca²⁺ із депо і підвищуючи ймовірність його зв'язування із внутрішньоклітинними мембранами.

На наступному етапі досліджень ми вирішили перевірити, як зміниться вміст мембранозв'язаного Ca²⁺ у слинних залозах під впливом блокатора Ca²⁺-помпи мембрани ендоплазматичного ретикулулу тапсигаргіну. У концентрації 1 мкмоль/л тапсигаргін спричиняв статистично достовірне підвищення вмісту Ca²⁺ на 45% у слинних залозах, інкубованих у базовому вихідному середовищі (рис. 3).

Ми очікували, що рівень мембранозв'язаного Ca²⁺ зменшиться, оскільки блокування роботи Ca²⁺-помпи мембрани ендоплазматичного ретикулулу запобігає надходженню іонів

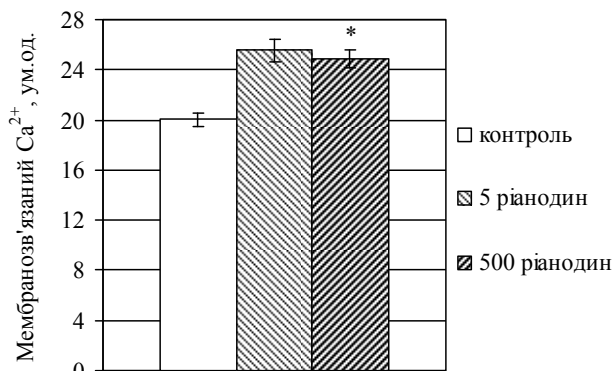


Рис. 2. Вплив ріанодину на вміст мембранозв'язаного Ca²⁺ у слинних залозах личинки: [Ca²⁺]_е=3,15 ммоль/л, [ріанодин] = 5 і 500 нмоль/л; * – різниця порівняно з контролем достовірна з P<0,05; n=8–9.

Ca^{2+} у депо, вивільнених за участю внутрішньоклітинних Ca^{2+} -каналів. Цікаво, що за концентрації тапсигаргіну 10 мкмоль/л статистично достовірних змін мембранозв'язаного Ca^{2+} у слинних залозах личинки дрозофіли не виявлено. Тому ми припускаємо, що у відповідь на спустошення депо Ca^{2+} за участю тапсигаргіну активуються депокеровані Ca^{2+} -канали плазматичної мембрани; його використовували для активації депокерованого входу Ca^{2+} у багатьох типів незбудливих клітин [34].

Отже, окрім потенціалкерованих Ca^{2+} -каналів, у плазматичній мембрані секреторних клітин слинних залоз личинки *Drosophila* наявні й інші Ca^{2+} -транспортувальні системи. Статистично достовірні зміни вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у слинних залозах під впливом АТФ дають нам змогу стверджувати про наявність P2-рецепторів. Достовірне підвищення вмісту Ca^{2+} у тканині за участю ріанодину свідчить про функціонування ріанодинчутливих Ca^{2+} -каналів. Зміна вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у слинних залозах під впливом тапсигаргіну служить доказом наявності Ca^{2+} -помпи у мембранах внутрішньоклітинного депо. Хоча ми припускаємо, що це може свідчити також і про функціональну активність депокерованих Ca^{2+} -каналів у плазматичній мембрані цих секреторних клітин, проте роль вищезгаданих Ca^{2+} -транспортувальних систем у процесах Ca^{2+} -сигналізації слинних залоз личинки *Drosophila* лишається нез'ясованою, що стане основною метою наших подальших досліджень.

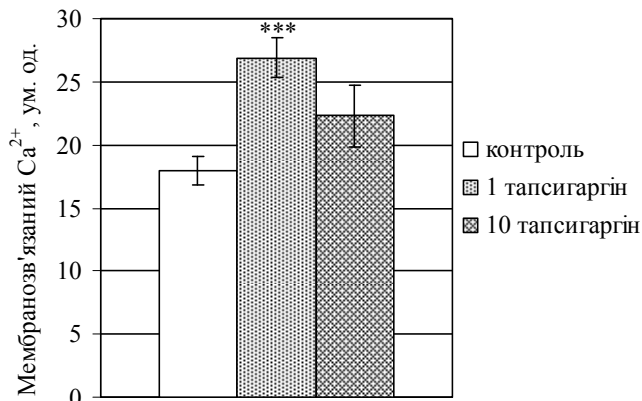


Рис. 3. Зміна вмісту мембранозв'язаного Ca^{2+} у слинних залозах личинки під впливом тапсигаргіну: $[\text{Ca}^{2+}]_e = 3,15$ ммоль/л, $[\text{тапсигаргін}] = 1$ і 10 мкмоль/л; *** – різниця порівняно з контролем достовірна з $P < 0,001$; $n = 8-10$.

1. Бабіч Л. Г. Мембранні механізми регуляції концентрації іонів Ca^{2+} у гладеньком'язових клітинах // Укр. біохім. журн. 1999. Т. 71. № 5. С. 10–22.
2. Белоконь Е. М. Генетический эксперимент в исследованиях на дрозофиле. Львов: Вища шк., 1979. 108 с.
3. Гринькив М. Я., Клевец М. Ю., Шостаковская И. В. Роль кальция в экстрюзии пищеварительных ферментов ацинарными клетками поджелудочной железы // Физиол. журн. 1988. Т. 34. № 4. С. 13–18.
4. Дубицький Л. О., Шостаковська І. В. Дослідження ролі зовнішньо- і внутрішньоклітинного кальцію в екстрюзії пепсиногена ізольованими залозами шлунка // Физиол. журн. 1992. Т. 38. № 1. С. 46–51.
5. Король Т. В., Клевец М. Ю., Манько В. В. Вплив кофеїну на Ca^{2+} -транспортні системи секреторних клітин слинної залози личинки *Chironomus plumosus* L. // Експеримент. і клін. фізіологія та біохімія. 1999. № 4 (8). С. 49–53.
6. Костерин С. А. Транспорт кальция в гладких мышцах. К.: Наук. думка, 1990. 216 с.
7. Костюк П. Г. Кальций и клеточная возбудимость. М.: Наука, 1986. 255 с.

8. Манько В. В., Клевець М. Ю., Ларіна О. А., Стельмах С. В. Слинні залози личинки *Chironomus plumosus* L. як об'єкт для досліджень Ca^{2+} -транспортних систем секреторних клітин екзокринних залоз // Біол. вісн. Харк. ун-ту. 2001. Т. 5. № 1–2. С. 133–136.
9. Манько В., Великопольська О. Ідентифікація пуринових рецепторів у секреторних клітинах слинних залоз личинки комара-дергуна // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2005. Вип. 40. С. 134–139.
10. Чорна Т. І., Манько В. В., Клевець М. Ю. Ідентифікація потенціалокерованого входу Ca^{2+} у секреторні клітини слинних залоз личинки *Drosophila melanogaster* // Експеримент. і клін. фізіологія та біохімія. 2007. № 2. С. 29–34.
11. Шуба М. Ф. Пути и механизмы трансмембранного входа в гладкомышечные клетки ионов кальция, участвующих в активации сокращения // Физиол. журн. 1981. Т. 27. № 4. С. 533–541.
12. Ambudkar I. S. Regulation of calcium in salivary gland secretion // Crit. Rev. Oral Biol. Med. 2000. Vol. 11. N 1. P. 4–25.
13. Ashby M. C., Tepikin A. V. Polarized Calcium and Calmodulin Signaling in Secretory Epithelia // Physiol. Rev. 2002. Vol. 82. P. 701–734.
14. Augustine G. J., Burns M. E., DeBello W. M. et al. Exocytosis: proteins and perturbations // AMU Rev. Phamcol. Toxkol. 1996. Vol. 36. P. 659–701.
15. Augustine G. J. How does calcium trigger neurotransmitter release? // Curr. Opinion in Neurobiol. 2001. Vol. 11. P. 320–326.
16. Bird G. S., Rossier M. F., Obief J. F., Putney J. W. Sinusoidal oscillations in intracellular calcium requiring negative feedback by protein kinase C // J. Biol. Chem. 1993. Vol. 268. P. 8425–8428.
17. Buck E., Zimanyi I., Abramson J. J., Pessah I. N. Ryanodine stabilizes multiple conformational states of the skeletal muscle calcium release channel // J. Biol. Chem. 1992. Vol. 267. P. 23560–23567.
18. Berridge M. J., Bootman M. D., Lipp P. Calcium – a life and death signal // Nature. 1998. Vol. 395. P. 645–648.
19. Chandler D. E., Williams J. A. Intracellular divalent cation release in pancreatic acinar cells during stimulus-secretion coupling. I. Use of chlorotetracycline as fluorescent probe // J. Cell Biol. 1978. Vol. 76. P. 371–385.
20. Delvalle J., Tsunoda Y., Williams J. A., Yamada T. Regulation of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ by secretagogue stimulation of canine gastric parietal cells // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 1992. Vol. 262. P. 420–426.
21. Dube K. A., McDonald D. G., O'Donnell M. J. Calcium homeostasis in larval and adult *Drosophila melanogaster* // Arch. Insect Biochem. Physiol. 2000. Vol. 44. N 1. P. 27–39.
22. Giannini G., Sorrentino V. Molecular structure and tissue distribution of ryanodine receptors calcium channels // Med. Res. Rev. 1995. Vol. 15. N 4. P. 313–323.
23. Gray P. T. Oscillations of free cytosolic calcium evoked by cholinergic and catecholaminergic agonists in rat parotid acinar cells // J. Physiol. 1988. Vol. 406. P. 35–53.
24. Furuya K., Enomoto K., Yamagishi S. Spontaneous calcium oscillations and mechanically and chemically induced calcium responses in mammary epithelial cells // Pflugers Arch. 1993. Vol. 422. P. 295–304.
25. Hardingham G. E., Cruzalegui F. H., Chawla S., Bading H. Distinct functions of nuclear and cytoplasmic calcium in the control of gene expression // Nature. 1997. Vol. 385. P. 260–265.
26. Hille C., Walz B. Dopamine-induced graded intracellular Ca^{2+} elevation via the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger operating in the Ca^{2+} -entry mode in cockroach salivary ducts // Cell Calcium. 2006. Vol. 39. P. 305–311.
27. Jung S. R., Kim M. H., Hille B. et al. Regulation of exocytosis by purinergic receptors in pancreatic duct epithelial cells // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2004. Vol. 286. P. 573–579.

28. *Kass G. E. N., Orrenius S.* Calcium signaling and cytotoxicity // *Environ. Health Perspect.* 1999. Vol. 107. P. 25–35.
29. *Ko W. H., O'Dowd J. J. M., Padiani J. D.* et al. Extracellular ATP can activate autonomic signal transduction pathways in cultured equine sweat gland epithelial cells // *J. Exp. Biol.* 1994. Vol. 190. P. 239–252.
30. *Ljungstrom M., Chew C. S.* Calcium oscillations and morphological transformations in single cultured gastric parietal cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1991. Vol. 260. P. 67–78.
31. *Luo X., Zheng W., Yan M.* et al. Multiple functional P2X and P2Y receptors in the luminal and basolateral membranes of pancreatic duct cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1999. Vol. 277. P. 205–215.
32. *Marty A., Evans M. G., Tan Y. P., Trautmann A.* Muscarinic response in rat lacrimal glands // *J. Exp. Biol.* 1986. Vol. 124. P. 15–32.
33. *Novak I.* ATP as a signaling molecule: the exocrine focus // *News Physiol. Sci.* 2003. Vol. 18. P. 12–17.
34. *Parekh A. B., Putney J. W., Jr.* Store-operated calcium channels // *Physiol. Rev.* 2005. Vol. 85. P. 757–810.
35. *Petersen C. C., Toescu E. C., Petersen O. H.* Different patterns of receptor-activated cytoplasmic Ca²⁺ oscillations in single pancreatic acinar cells: dependence on receptor type, agonist concentration and intracellular Ca²⁺ buffering // *EMBO J.* 1991. Vol. 10. P. 527–533.
36. *Ralevic V., Burnstock G.* Receptors for Purines and Pyrimidines // *Pharmacol. Rev.* 1998. Vol. 50. N 3. P. 413–492.
37. *Rizzuto R., Duchen M. R., Pozzan T.* Flirting in little space: the ER/Mitochondria Ca²⁺ liaison // *Sci. STKE.* 2004. Vol. 215. P. 1–9.
38. *Rubin R. P., Adolf M. A.* Cyclic AMP regulation of calcium mobilization and amylase release from isolated permeabilized rat parotid cells // *Pharmacol. Exp. Ther.* 1994. Vol. 268. P. 600–606.
39. *Schmidt R., Baumann O., Walz B.* cAMP potentiates InsP₃-induced Ca²⁺ release from the endoplasmic reticulum in blowfly salivary glands // *BMC Physiology.* 2008. Vol. 8. N 10. P. 1–11.
40. *Smith J. P., Yelamarty R. V., Kramer S. T., Cheung J. Y.* Effects of cholecystokinin on cytosolic calcium in pancreatic duct segments and ductal cells // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1993. Vol. 264. P. 1177–1183.
41. *Thorn P., Lawrie A. M., Smith P. M.* et al. Ca²⁺ oscillations in pancreatic acinar cells: spatiotemporal relationships and functional implications // *Cell Calcium.* 1993. Vol. 14. N 10. P. 746–757.
42. *Turner J. T., Weisman G. A., Camden J. M.* Upregulation of P2Y2 nucleotide receptors in rat salivary gland cells during short-term culture // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1997. Vol. 273. P. 1100–1107.
43. *Turner J. T., Landon L. A., Gibbons S. J., Talamo B. R.* Salivary gland P2 nucleotide receptors // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 1999. Vol. 10. P. 210–224.
44. *Webb S. E., Miller A. L.* Ca²⁺ signaling and early embryonic patterning during the Blastula and Gastrula Periods of Zebrafish and *Xenopus* development // *Biochim. and Biophys. Acta.* 2006. Vol. 1763. N 11. P. 1192–1208
45. *Zimanyi I., Buck E., Abramson J. J.* et al. Ryanodine induces persistent inactivation of the Ca²⁺ release channel from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum // *Mol. Pharmacol.* 1992. Vol. 42. P. 1049–1057.
46. *Zimmermann B., Walz B.* The mechanism mediating regenerative intercellular Ca²⁺ waves in the blowfly salivary gland // *EMBO J.* 1999. Vol. 18. No. 12. P. 3222–3231.
47. *Yule D. I., Gallacher D. V.* Oscillations of cytosolic calcium in single pancreatic acinar cells stimulated by acetylcholine // *FEBS Lett.* 1988. Vol. 239. P. 358–362.

SYSTEMS OF Ca²⁺ TRANSPORTING IN SALIVARY GLANDS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* LARVAE**T. Chorna, V. Manko, M. Klevets**

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: tanya0104@yandex.ru*

Ca²⁺-transport systems were identified in secretory cells in salivary glands of *Drosophila melanogaster* larvae based on membrane-bound Ca²⁺ content analysis. It has been shown that ATP (0,1 and 1 mmol/l) caused significant changes of membrane-bound Ca²⁺ content in glands tissue. Moreover, ATP-induced elevation of Ca²⁺ content depends on the presence of these ions in extracellular medium. This is an evidence of functional activity of P2X- and P2Y-receptors on the plasma membrane in secretory cells of larval salivary glands. Ryanodine (500 nmol/l) evoked a significant increase of membrane-bound Ca²⁺ content in salivary glands, which suggests about the existence of ryanodine-sensitive Ca²⁺-channels in the endoplasmic reticulum membrane. We observed a significant elevation of Ca²⁺ content in glands tissue under the influence of thapsigargin (1 μmol/l), thereby indicating the functioning of Ca²⁺-pump in intracellular store membranes.

Key words: calcium, P2-receptors, ryanodine-sensitive Ca²⁺-channels, Ca²⁺-pump, salivary glands, *Drosophila melanogaster*.

СИСТЕМЫ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ Ca²⁺ В СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗАХ ЛИЧИНКИ *DROSOPHILA MELANOGASTER***Т. Чорна, В. Манько, М. Клевец**

*Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина
e-mail: tanya0104@yandex.ru*

На основании анализа изменений содержимого мембраносвязанного Ca²⁺ идентифицированы Ca²⁺-транспортирующие системы в секреторных клетках слюнных желез личинки *Drosophila melanogaster*. Показано, что АТФ (0,1 и 1 ммоль/л) вызывал статистически достоверное повышение содержимого мембраносвязанного Ca²⁺ в ткани желез. Причем АТФ-индуцированное увеличение содержимого Ca²⁺ зависит от уровня этих ионов во внеклеточной среде, что мы рассматриваем как подтверждение наличия P2X- и P2Y-рецепторов на плазматической мембране секреторных клеток слюнных желез личинки. Рианодин (500 нмоль/л) вызывал статистически достоверное повышение содержимого мембраносвязанного Ca²⁺ в слюнных железах, что свидетельствует о наличии рианодинчувствительных Ca²⁺-каналов в мембране эндоплазматического ретикулума. Под действием тапсигаргина (1 мкмоль/л) наблюдали достоверное увеличение содержимого Ca²⁺ в ткани желез, что указывает на функционирование Ca²⁺-насоса в мембранах внутриклеточного депо.

Ключевые слова: кальций, P2-рецепторы, рианодинчувствительные Ca²⁺-каналы, Ca²⁺-насос, слюнные железы, *Drosophila melanogaster*.

Стаття надійшла до редколегії 05.12.08

Прийнята до друку 30.12.08