

ИЗУЧЕНИЕ СТИМУЛЯЦИИ МЕДЛЕННОГО ВЫХОДА ИОНОВ Ca^{2+} ИЗ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ КОМУТОНОМ ИЗ ЭТОГО ОРГАНА

Г.М. Элбакидзе, А.Г. Элбакидзе, А.Г. Меденцев*

Медико-биологический центр Ассоциации содействия Всемирной лаборатории, Москва

**Институт Биохимии и физиологии микроорганизмов РАН, г. Пущино, МО.*

mb.center@hotmail.com

Аннотация

Известно, что активация присутствующих в печени фиксированных макрофагов – клеток Купффера – путем введения животному эндотоксина (продигиозана) приводит к накоплению в этом органе продигиозан-зависимого комутона (ПЗК), который обладает способностью тканеспецифически регулировать метаболизм ионов Ca^{2+} в митохондриях гепатоцитов.

В работе исследован механизм обнаруженного ранее авторами явления стимуляции выхода ионов Ca^{2+} из митохондрий печени под действием ПЗК. Показано, что накопление ионов Ca^{2+} в матриксе митохондрий является необходимым условием для стимуляции скорости медленного выхода ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий под действием ПЗК. Установлено, что вызываемая ПЗК стимуляция медленного выхода ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий печени нечувствительна к циклоспорино А и не сопровождается снижением трансмембранного потенциала митохондрий, а также высокоамплитудным набуханием митохондрий.

Сделано заключение о том, что в среде инкубации не содержащей ионов натрия ПЗК обладает способностью регулировать медленный выход по механизму $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ обмена, а не в результате открытия поры перехода проницаемости у части митохондрий в суспензии.

Ключевые слова: митохондрии, гепатоциты, выход кальция, комутон, клетки Купффера.

**STUDY OF STIMULATION OF Ca^{2+} IONS SLOW EFFLUX FROM RAT LIVER
MITOCHONDRIA BY COMUTON FROM THIS ORGAN**

G.M. Elbakidze, A.G. Elbakidze, A.G. Medentsev*

Biomedical Center, Association for World Laboratory, Moscow

**Institute of Biochemistry and Physiology of microorganisms, Pushchino, Moscow Region*

mb.center@hotmail.com

Summary

It is known that activation of fixed macrophages – Kupffer cells – in liver by treatment of animal with endotoxin (prodigiosan) leads to accumulation of prodigiosan-dependent comuton (PDC) in liver, able to regulate Ca^{2+} ions metabolism in mitochondria of hepatocytes tissue-specifically.

It was demonstrated that Ca^{2+} ions accumulation in mitochondrial matrix is necessary condition for stimulation of slow efflux of Ca^{2+} ions from mitochondrial matrix by PDC. It is established that stimulation of slow efflux of Ca^{2+} ions from matrix of liver mitochondria caused by PDC is insensitive to cyclosporine A and not accompanied by lowering of transmembrane potential as well as by high-amplitude swelling of mitochondria.

The conclusion was made that in sodium free incubation media PDC possess an ability to regulate slow efflux of Ca^{2+} ions via $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ exchange mechanism, but not by opening of permeability transition pore in a small part of mitochondria in suspension.

Key words: mitochondria, hepatocytes, calcium efflux, comuton, Kupffer cells.

Введение

Известно, что в условиях повреждения, а также при повышенной нагрузке на физиологические функции гепатоцитов в них накапливается комутон – регулятор, тканеспецифически деэнергизирующий митохондрии этих клеток [1]. В частности, показано, что комутон накапливается в цитозоле клеток печени после введения животному продигиозана [1, 2] – эндотоксина, активирующего клетки Купффера в печени [3]. Было обнаружено, что предварительная инактивация фагоцитарной функции клеток Купффера путем введения в кровяное русло суспензии частиц карбонильного железа [4] предотвращает накопление комутона в гепатоцитах [3]. Известно, что активированные в

результате фагоцитоза клетки Купффера высвобождают в межклеточное пространство супероксид-анион [5] и ферменты лизосом [6] и, тем самым, повреждают близлежащие гепатоциты [4]. В связи с этим можно полагать, что накопление в клетках печени продигозан-зависимого комутона (ПЗК) после введения животному продигозана является ответной реакцией на нанесенное им повреждение. Было показано, что ПЗК, выделенный из печени крысы участвует в регулировании выхода ионов Ca^{2+} из предварительно «нагруженных» этими ионами митохондрий гомологичного органа. ПЗК стимулировал медленный выход ионов Ca^{2+} из митохондрий в присутствии рутениевого красного (РК) [1, 7]. В СИ без РК комутон также вызывал быстрый массивный выход ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий. Последний сопровождался падением трансмембранного потенциала, который восстанавливался после добавления ЭГТА [8]. Оба эффекта комутона наблюдались на митохондриях из печени крысы, но не на митохондриях из почки этого животного. Это свидетельствовало о тканевой специфичности действия комутона, характерной для эффекторов внутритканевых регуляций.

Отмеченные выше свойства процесса быстрого выхода ионов Ca^{2+} под влиянием ПЗК характерны для высвобождения этих ионов по механизму поры перехода проницаемости (ППП) [9, 10], что указывает на возможность индукции порового механизма под действием ПЗК. Что же касается вызываемой ПЗК стимуляции скорости РК-нечувствительного выхода Ca^{2+} из матрикса митохондрий то ее можно было объяснить как стимуляцией Ca^{2+} -антипортерного механизма, так и открытием ППП у части митохондрий в популяции [11]. Поэтому вопрос о регулировании ПЗК выхода ионов Ca^{2+} по антипортерному механизму оставался открытым. Настоящая статья посвящена проверке возможности участия ПЗК в регулировании медленного выхода ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий.

Материалы и методы

Митохондрии из печени и почки получали из интактных беспородных крыс массой 200-220 г методом Шнейдера в модификациях, как это было описано ранее [1]. ПЗК выделяли из печени крыс, которым предварительно вводили этот эндотоксин [1].

В экспериментах использовали частично-очищенный комутон из печени, полученный в результате гель-фильтрации термостабильной фракции цитозола, а также

высокоочищенный препарат этого регулятора, доочищенный с применением процедур ВЭЖХ.

Транспорт ионов Ca^{2+} в митохондриях изучали с применением Ca^{2+} -селективного электрода фирмы «НИКО АНАЛИТ». Величину трансмембранного потенциала оценивали ТФФ⁺-чувствительным электродом той же фирмы по распределению катиона ТФФ⁺ между внешней средой (изначально 1 мМ ТФФ⁺-Cl) и митохондриальным матриксом [12].

Митохондрии в процессе измерений инкубировали в открытой термостатируемой при 28°C ячейке объемом 3 мл при непрерывном перемешивании СИ. Состав СИ приводится в подписях к рисункам.

ВАН изучали на спектрофотометре «Шимадзу» посредством регистрации оптической плотности суспензии митохондрий при 520 нм. Измерения проводили в кювете спектрофотометра объемом 1,5 мл с длиной оптического пути 5 мм при 25°C. Белок в митохондриальной суспензии определяли методом Лоури.

Приведенные результаты являются типичными по 3 – 5 экспериментам.

Результаты

На Рис. 1 представлена зависимость скорости выхода ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий печени в СИ от «кальциевой нагрузки» – количества этих ионов, предварительно поглощенных митохондриями. Из данных рисунка видно, что у интактных митохондрий печени скорость выхода ионов Ca^{2+} близка к приводимым в литературе данными о величине таковой при медленном выходе этих ионов по механизму $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ обмена [13]. Из данных Рис. 1 видно, что в исследованном интервале Ca^{2+} -нагрузок у интактных митохондрий печени скорость выхода ионов Ca^{2+} незначительно возрастает с увеличением Ca^{2+} -нагрузки (Рис. 1, кривая 1). Добавление ПЗК к ненагруженным ионами Ca^{2+} митохондриям не влияло на скорость выхода ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий в присутствии РК. У предварительно нагруженных ионами Ca^{2+} митохондрий добавление ПЗК заметно увеличивало эту скорость по сравнению с контролем без ПЗК. При этом, также как и в контроле без ПЗК, скорость стимулированного ПЗК выхода ионов Ca^{2+} незначительно возрастала во всем диапазоне примененных Ca^{2+} -нагрузок (Рис. 1, кривая 2).

Результаты экспериментов по изучению влияния циклоспорина А (ЦсА) на вызываемую ПЗК стимуляцию выхода ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий,

предварительно нагруженных ионами Ca^{2+} , приведены на Рис.2. Из приведенных данных видно, что интактные митохондрии печени аккумулируют ионы Ca^{2+} , добавленные в СИ, после чего изменений его концентрации в СИ не наблюдается во всем временном интервале проводимых измерений. В результате добавления в СИ РК наблюдается линейное нарастание концентрации ионов Ca^{2+} в СИ, отражающее медленный выход этих ионов из матрикса митохондрий. Введение в СИ ПЗК не влияло на концентрацию ионов Ca^{2+} в СИ. Однако последующее добавление РК вызывало ее нарастание со скоростью, вдвое превышающей таковую в контроле без ПЗК. Добавление к нагруженным ионами Ca^{2+} митохондриям ЦсА перед введением в нее ПЗК и РК не сказывалось на величине индуцированной ПЗК стимуляции скорости медленного выхода ионов Ca^{2+} , наблюдаемого в присутствии РК.

Дальнейшее исследование эффекта выхода ионов Ca^{2+} из матрикса предварительно нагруженных ионами Ca^{2+} митохондрий печени в присутствии РК под действием ПЗК проводилось с добавлением в СИ ЦсА после завершения аккумуляции ионов Ca^{2+} в митохондриях. На Рис. 3 представлены результаты изучения действия ПЗК на трансмембранный потенциал митохондрий в процессе стимуляции выхода ионов Ca^{2+} из их матрикса в присутствии РК. Из данных этого рисунка следует, что в СИ без ПЗК наблюдаемый после добавления РК выход ионов Ca^{2+} не сопровождается повышением концентрации TFF^+ в этой среде, что указывает на отсутствие изменения величины трансмембранного потенциала митохондрий. Его величина не изменяется также и в процессе выхода ионов Ca^{2+} , стимулированного добавлением ПЗК.

Было изучено влияние ПЗК на набухание митохондрий в экспериментах, представленных на Рис.2. Оказалось, что в присутствии ЦсА ПЗК не вызывал набухания митохондрий печени, предварительно нагруженных ионами Ca^{2+} .

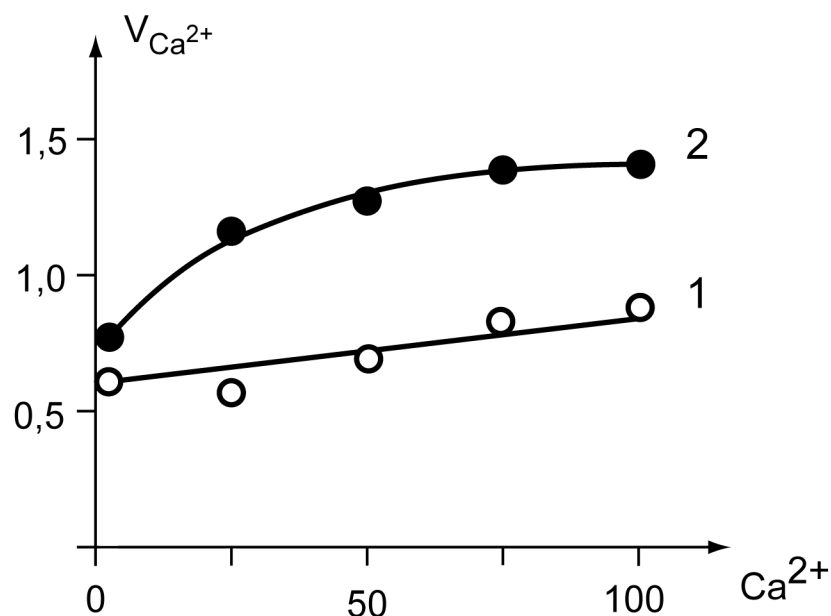


Рис.1. Влияние ПЗК на характер зависимости скорости выхода ионов Ca^{2+} в присутствии РК из матрикса от «кальциевой нагрузки» на митохондрии печени.

Абсцисса - величина кальциевой нагрузки на митохондрии печени. Ордината - скорость медленного выхода ионов кальция из матрикса митохондрий в присутствии РК. 1 - СИ без ПЗК; 2 - СИ добавлен ПЗК.

Состав СИ: 250 мМ сахарозы, 30 мМ KCl, 1 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ сукцината, 50 мкМ АДФ, ротенон и олигомицин по 1 мкг/мг белка митохондрий, 10 мМ трис-буфер, pH 7,2. Последовательность добавок: митохондрии печени, 1,3 мг/мл; CaCl_2 , см. абсциссу; РК, 2,5 мкг/мг белка митохондрий; частично очищенный ПЗК из печени (120 мкг/мг белка митохондрий) добавляли через 15 с после введения в СИ РК.

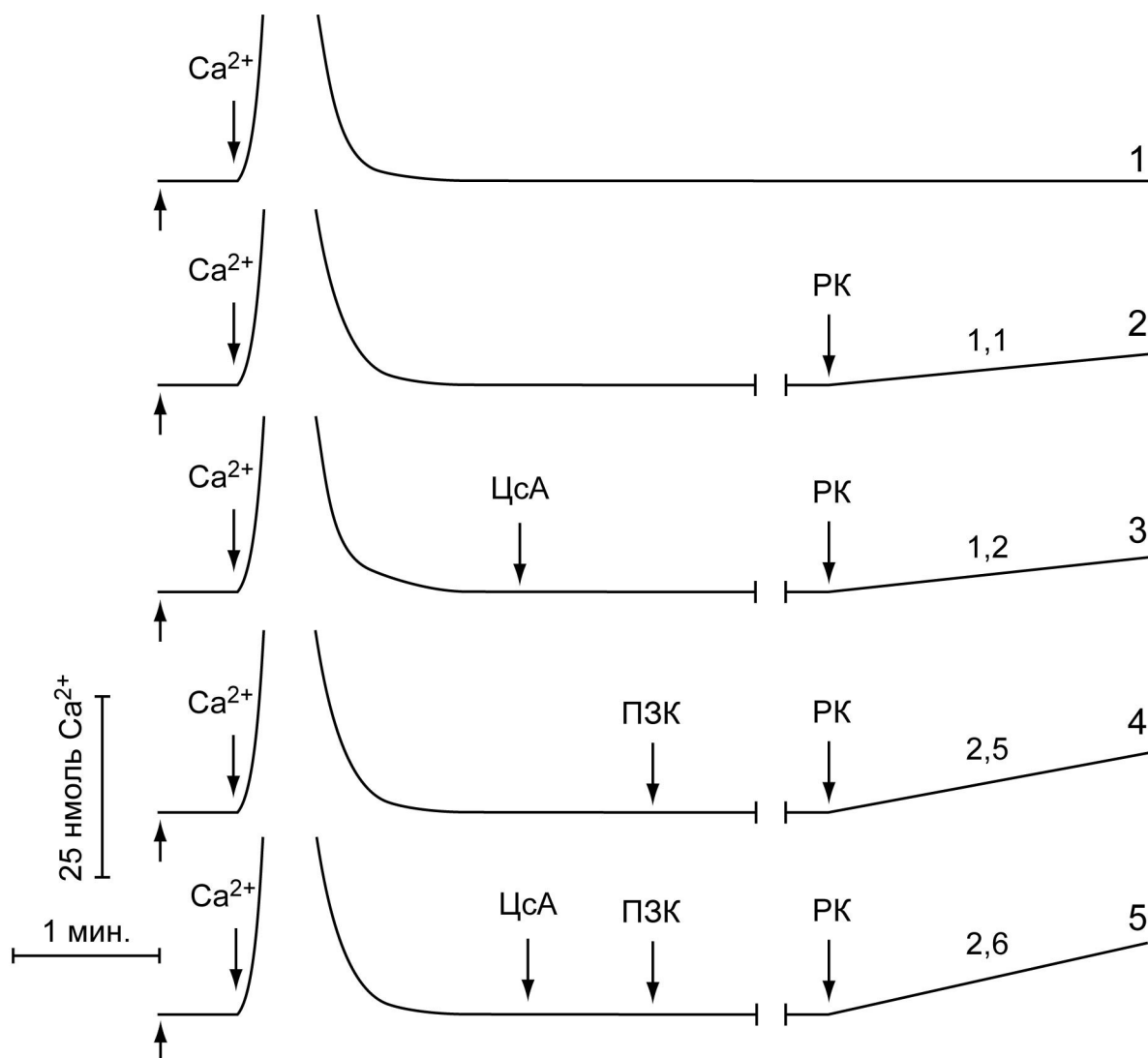


Рис. 2. Влияние ЦсА на скорость выхода ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий печени в присутствии РК под действием ПЗК. 1 – аккумуляция ионов Ca^{2+} в митохондриях в СИ без добавок; 2 - выход ионов Ca^{2+} из митохондрий после добавления РК; 3 – то же, что и «2», но в СИ предварительно добавлен ЦсА; 4 – то же, что и «2», при добавлении ПЗК; 5 - выход ионов Ca^{2+} из митохондрий после добавления РК в присутствии ПЗК в СИ с ЦсА. Разрывы на кривых сделаны для удобства сравнения скоростей выхода ионов Ca^{2+} . Разница во времени между введением ионов Ca^{2+} и введением РК составляла не более 0,5 мин. Состав СИ: 250 мМ сахарозы, 30 мМ KCl, олигомицин (1 мкг/мг белка митохондрий), сукцинат 10 мМ, 10 мМ трис-буфера, pH 7,2.

Обозначения и добавки: Стрелками отмечены моменты введения добавок. Стрелки без обозначений – митохондрии печени, 1,1 мг белка/мл; Ca^{2+} - CaCl_2 , 140 нмоль/мг белка

митохондрий; РК, 2 нмоль/мг белка митохондрий; ПЗК, 7 мкг/мг белка митохондрий; ЦсА, 2 нмоль/мг белка митохондрий. Цифрами над кривыми обозначены величины скоростей выхода ионов Ca^{2+} в присутствии РК (нм/мг белка митохондрий * мин.).

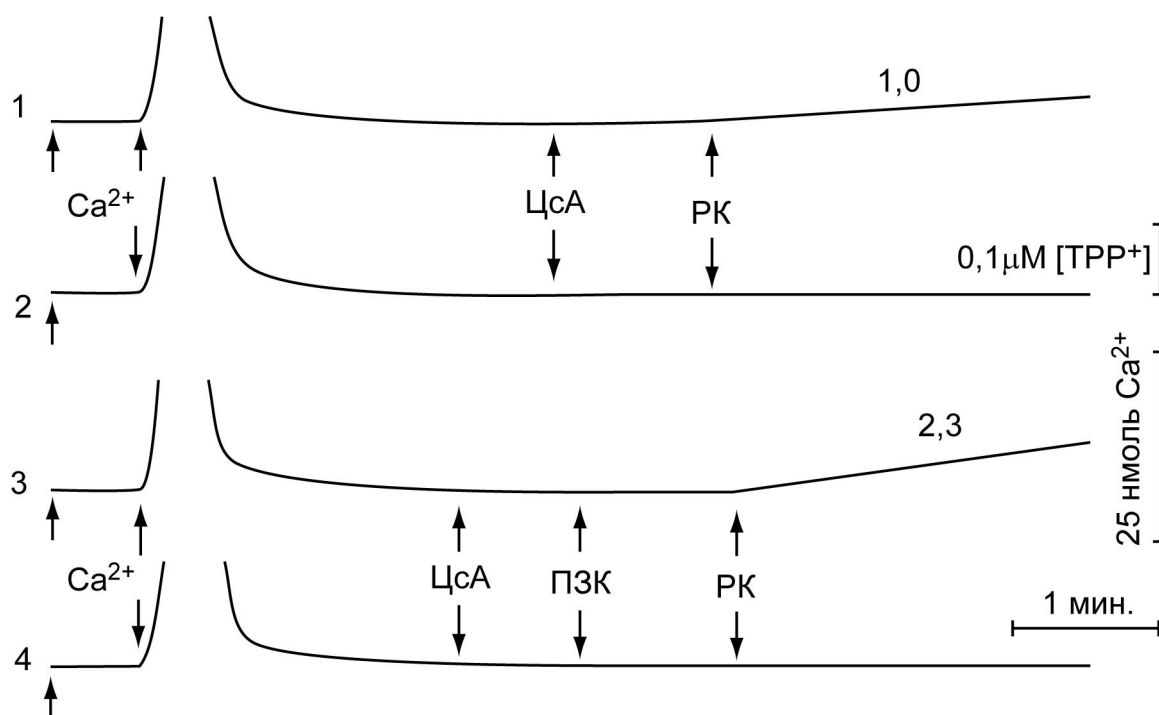


Рис. 3. Влияние ПЗК из печени на трансмембранный потенциал митохондрий печени в условиях стимуляции им медленного выхода ионов Ca^{2+} из этих органелл. 1, 3 – выход ионов Ca^{2+} из митохондрий печени после добавления РК в СИ с ЦсА. 3 – в СИ добавлен ПЗК. 2, 4 – трансмембранный потенциал в экспериментах 1 и 3 соответственно. Состав СИ, условия эксперимента и добавки что и на Рис 2.

Обсуждение

ЦсА не ингибировал стимуляцию медленного выхода ионов Ca^{2+} , вызываемую ПЗК, а сам процесс медленного выхода не сопровождался снижением трансмембранного потенциала и ВАН митохондрий. В связи с этим можно заключить, что стимулируемый ПЗК выход ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий в присутствии РК не является результатом индукции ЦсА-чувствительной ППП во внутренней мембране некоторой части этих органелл в популяции.

Известно, что наряду с «ЦсА-чувствительным» в митохондриях возможен также и «ЦсА-нечувствительный режим» функционирования ППП. Показано, что последний

возникает под действием более высоких концентраций индукторов «классической» ЦсА-чувствительной ППП [14]. Однако и в этом режиме активация ППП сопровождается падением мембранного потенциала. Сохранение мембранного потенциала митохондрий в наших экспериментах позволяют исключить вклад механизма ППП в ПЗК-активируемую стимуляцию выхода ионов Ca^{2+} как в ЦсА-чувствительного, так и в ЦсА-нечувствительном режиме.

На основании вышеизложенного можно полагать, что вызываемая ПЗК стимуляция выхода ионов Ca^{2+} из митохондрий печени в присутствии РК, по-видимому, происходит по механизму «медленного выхода». Известно, что в митохондриях печени медленный выход этих ионов может происходить с участием как $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -обменного [15] так и $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ -обменного [16] транспортирующего механизмов. Тот факт, что исследуемый эффект ПЗК наблюдается в СИ, не содержащей ионов натрия, исключает участие в исследуемом процессе $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ -обменного механизма.

Следует отметить, что представление о повсеместном распространении в митохондриях из тканей животного Na^{+} -независимой транспортной системы в митохондриях, выводящей ионы Ca^{2+} в цитозол [17] согласуется с таковыми об универсальности комутонных регуляций в тканях животных [18].

Известно, что 98,8% митохондрий присутствующих в целой печени находятся в гепатоцитах [19]. Соответственно и митохондриальная фракция, выделяемая из гомогената печени, практически полностью состоит из митохондрий упомянутых клеток. Поэтому приведенные данные отражают действие ПЗК на медленный выход ионов Ca^{2+} из митохондрий гепатоцитов, а не иных клеток печени.

Из приведенных в настоящей статье данных следует, что ПЗК стимулирует медленный выход ионов Ca^{2+} только из митохондрий с высоким содержанием ионов Ca^{2+} в матриксе. Известно, что ионы Ca^{2+} накапливаются в митохондриях при повреждении клеток [20], или в условиях их высокой функциональной активности, вызванной физиологическими стимулами [21], тогда как в интактных клетках в состоянии покоя содержание Ca^{2+} в матриксе митохондрий мало [22]. Это позволяет предположить, что ПЗК обладает популяционной специфичностью действия на поврежденные или интенсивно функционирующие гепатоциты и не влияет на скорость медленного выхода ионов Ca^{2+} у митохондрий в популяции интактных гепатоцитов.

Общеизвестна ключевая роль ионов Ca^{2+} в регулировании активности ферментов в живой клетке. Его концентрация в цитозоле интактных клеток поддерживается на весьма низком уровне [23] и тонко регулируется с участием Ca^{2+} -транспортирующих АТФ-аз в составе эндоплазматического ретикулума [24] и наружной плазматической мембраны [25], обладающих высоким сродством к этому иону, а также митохондриального унипортера с гораздо более низким сродством [26]. Низкое сродство унипортера к ионам Ca^{2+} , а также способность митохондрий аккумулировать в матриксе большое количество упомянутых ионов в присутствии ионов фосфата указывает на важный вклад этих органелл в поддержании низкой концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле поврежденных клеток, находящихся в состоянии низкоэнергетического сдвига. Очевидно, что в таких клетках процесс высвобождения ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий в цитозол целесообразно осуществлять в режиме, минимизирующем повреждение клетки этими ионами. С этой точки зрения медленный выход ионов Ca^{2+} из матрикса имеет три существенных преимущества перед их выбросом по механизму ППП.

Во-первых скорость выхода ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий по механизму $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ обмена мала [13] по сравнению с таковой у ППП. Очевидно, что при медленном поступлении ионов Ca^{2+} в цитозол по механизму $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ обмена он будет быстрее эвакуироваться в эндоплазматический ретикулум и межклеточное пространство, чем при его быстром выбросе по механизму ППП. Поэтому можно полагать, что вероятность активации потенциально опасных для клетки Ca^{2+} -зависимых ферментов, таких как фосфолипазы [27], протеазы [28], эндонуклеазы [29] и кальпины [30] при поступлении ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий в цитозол по механизму $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ обмена меньше, чем при его освобождении по механизму ППП.

Во-вторых, функционирование $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ транспортного механизма не сопровождается заметным снижением трансмембранного потенциала [31], что позволяет сохранять энергизованное состояние митохондрий в ходе этого процесса. Заметим, что открытие ППП не только приводит к ингибированию окислительного фосфорилирования, но сопровождается стимулированием АТФ-азной активности митохондрий [32], т.е. способствует деэнергизации клетки.

В-третьих, наличие высокого трансмембранного потенциала предотвращает повреждение внутренней мембраны митохондрий Ca^{2+} -зависимой фосфолипазой А2 [33]. Поэтому высвобождение ионов Ca^{2+} из митохондрий по механизму медленного выхода,

протекающее без его заметного снижения, в отличие от выброса Ca^{2+} при посредстве ППП, позволяет перераспределять ионы Ca^{2+} между матриксом митохондрий и цитозолом без ферментативной деградации внутренней мембраны митохондрий.

Очевидно, что из-за ограниченной «кальциевой емкости» митохондрий их способность участвовать в гомеостазировании ионов Ca^{2+} в цитозоле уменьшается пропорционально количеству аккумулированных в матриксе ионов Ca^{2+} . Поэтому, чем быстрее выводятся ионы Ca^{2+} из матрикса, тем скорее митохондрии восстанавливают свою функцию по поддержанию Ca^{2+} - гомеостаза в цитозоле. В связи с этим можно полагать, что, стимулируя «медленный выход» ионов Ca^{2+} в цитозол поврежденных гепатоцитов, ПЗК способствует ускоренному восстановлению вышеупомянутой функции митохондрий. Благодаря особенностям организации $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ транспортного механизма, этот результат может быть достигнут под влиянием ПЗК без ущерба (или с минимальным ущербом) для функциональной активности и структурной целостности митохондрий и в режиме, наиболее благоприятном с точки зрения угрозы активации катаболических Ca^{2+} -зависимых ферментов. На основании вышеизложенного можно заключить, что активированные продигозаном клетки Купффера, инициирующие накопление в печени ПЗК, могут при его посредстве ускорять восстановление функции митохондрий по поддержанию Ca^{2+} - гомеостаза в цитозоле поврежденных гепатоцитов путем стимуляции скорости выхода ионов Ca^{2+} из матрикса этих органелл по механизму $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -обмена.

Выводы

1. «Кальциевая нагрузка» является необходимым условием для вызываемой ПЗК стимуляции медленного выхода ионов Ca^{2+} из митохондрий печени в присутствии РК.
2. Стимуляцию выхода ионов Ca^{2+} из митохондрий печени в присутствии РК под действием ПЗК из печени не связана с открытием ППП у части митохондрий в суспензии о чем свидетельствуют нечувствительность этого эффекта к ЦсА и отсутствие изменений величины трансмембранного потенциала.
3. ПЗК обладает способностью стимулировать медленный выход ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий печени по механизму $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ обмена.
4. Можно полагать, что клетки Купффера способны опосредованно регулировать функцию митохондрий по гомеостазированию ионов Ca^{2+} в поврежденных гепатоцитах, способствуя ее ускоренному восстановлению.

Литература

1. Элбакидзе Г.М., Челидзе М.А., Элбакидзе И.М. Тканеспецифическая регуляция транспорта ионов кальция термостабильным комутонном из печени крысы. // Докл. АН СССР, 1990, т. 313, № 2, с.474-478.
2. Elbakidze G.M., Medentsev A.G., Kulikova L.A. Liver damage activates comuton control of mitochondrial processes in liver cells. // 13-th Natl. Biochem. Congr. with Foreign Particip. Abstract book, C-663, Antalya, 1996.
3. Элбакидзе Г.М., Элбакидзе А.Г., Куликова Л.А. Исследование участия клеток Купффера в инициации процесса пролигиозан-зависимого накопления комутонна в печени крысы. // Докл. АН, 2006, т. 407, № 1, с.119-123.
4. Маянский Д.Н., Щербаков В.И., Мироханов Ю.М. Влияние блокады купферовских клеток в разные периоды после частичной гепатэктомии. // Бюлл. эксперим. биол. мед., 1977, т. 64, № 11, с.616-618.
5. Bhatnagar R., Schirmer R., Ernst M., Decker K. Superoxide release by zymosan-stimulated rat Kupffer cells in vitro. // Eur. J. Biochem. / FEBS, 1981, v.119, N.1, p.171-175.
6. Tanner A., Keyhani A., Reiner R., Holdstock G., Wright R. Proteolytic enzymes released by liver macrophages may promote hepatic injury in a rat model of hepatic damage. // Gastroenterology, 1981, v.80, N.4, p.647-654.
7. Elbakidze G.M., Chelidze M.A., Elbakidze I.M. The tissuespecific control of calcium ion metabolism in rat liver mitochondria by liver comuton. // EBEC Short Reports, 1994, v.8, p.85-85.
8. Элбакидзе Г.М., Фойгель А.Г., Маевский Е.И., Бохуа Б.Т., Челидзе М.А., Элбакидзе И.М., Гордезиани М.Ш. Исследование тканеспецифической Ca^{2+} -зависимой регуляции митохондриальных процессов термостабильным комутонном из печени крысы. // Доклады АН, 1992, т. 324, № 1, с. 214-219.
9. Crompton M., Costi A. Kinetic evidence for a heart mitochondrial pore activated by Ca^{2+} , inorganic phosphate and oxidative stress. A potential mechanism for mitochondrial dysfunction during cellular Ca^{2+} overload. // European journal of biochemistry / FEBS, 1988, v.178, N.2, p.489-501;

10. Petronilli V., Nicolli A., Costantini P., Colonna R., Bernardi P. Regulation of the permeability transition pore, a voltage-dependent mitochondrial channel inhibited by cyclosporin A. // *BBA - Bioenergetics*, 1994, v.1187, N.2, p.255-259.
11. Riley W.W., Jr., Pfeiffer D.R. Relationships between Ca^{2+} release, Ca^{2+} cycling, and Ca^{2+} -mediated permeability changes in mitochondria. // *J. Biol. Chem.*, 1985, v. 260, p.12416-12425.
12. Kamo N, Muratsugu M, Hongoh R, Kobatake Y. Membrane potential of mitochondria measured with electrode sensitive to tetraphenyl phosphonium and relationship between proton electrochemical potential and phosphorylation potential in steady state. // *J Membr Biol.*, 1979, v.49, p.105-121.
13. Wingrove D.E., Gunter T.E. Kinetics of mitochondrial calcium transport. I. Characteristics of the sodium-independent calcium efflux mechanism of liver mitochondria. // *J. Biol. Chem.*, 1986, v.261, p.15159-15165.
14. He L., Lemasters J.J. Regulated and unregulated mitochondrial permeability transition pores: a new paradigm of pore structure and function? // *FEBS Letters*, 2002, v.512, i.1-3, p.1-7.
15. Fiskum G., Lehninger A.L. Regulated release of Ca^{2+} from respiring mitochondria by $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ antiport. // *J. Biol. Chem.* 1979, v.254, p.6236-6239.
16. Haworth R.A., Hunter D.R., Berkoff H.A. Na^{+} releases Ca^{2+} from liver, kidney and lung mitochondria. // *FEBS Lett.*, 1980, v.110, p.216-218.
17. Rottenberg H., Marbach M. The Na^{2+} -independent Ca^{2+} efflux system in mitochondria is $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ exchange system. // *FEBS Lett.*, 1990, v.274, N1,2, p.65-68.
18. Элбакидзе Г.М. Тканеспецифические разобщители окислительного фосфорилирования митохондрий из сердца, почки, тимуса и легкого крысы. // *Бюлл. эксперим. биол. мед.*, 1979, т. 87, № 2, с.149-151.
19. Wisse E., Knook D. In: *Progress in liver diseases* (Ed. – H. Popper). N.Y.: Raven Press, 1979, v.6, p.151.
20. Orrenius S., McCabe M.J. Jr., Nicotera P. Ca^{2+} -dependent mechanisms of cytotoxicity and programmed cell death. // *Toxicol. Lett.*, 1992, v.64-65, p.357-364.
21. Assimacopoulos-Jeannet F., McCormack J.G., Jeanrenaud B. Vasopressin and/or glucagon rapidly increases mitochondrial calcium and oxidative enzyme activities in the perfused rat liver. // *J. Biol. Chem.*, 1986, v.261, N.19, p.8799-8804.

22. Bond M., Vadasz G., Somlyo A.V., Somlyo A. P. Subcellular calcium and magnesium mobilization in rat liver stimulated in vivo with vasopressin and glucagon. // *J.Biol. Chem.*, 1987, v.262, N.32, p.15630-15636.
23. Thomas C.E., Reed D.J. Current status of calcium in hepatocellular injury. // *Hepatology*, 1989, v.10, p.375-384.
24. Cheung W.Y. Calmodulin: an overview. // *Fed. Proc.*, 1982, v. 41, p.2253-2257.
25. Murphy E., Coll K., Rich T.L., Williamson J.R. Hormonal effects on calcium homeostasis in isolated hepatocytes. // *J. Biol. Chem.*, 1980, v.255, p.6600-6608.
26. Nicotera P., Bellomo G., Orrenius S. The Role of Ca^{2+} in Cell Killing. // *Chem. Res. Toxicol.*, 1990, v.3, p.484-494.
27. Lin L.L., Wartman M., Lin A.Y., Knopf J.L., Seth A., Davis R.J. cPLA2 is phosphorylated and activated by MAP kinase. // *Cell*. 1993, v.72, p.269-278.
28. Salamino F., DeTullio R., Mengotti P., Viotti P.L., Melloni E., Pontremolli S. Site-directed activation of calpain is promoted by membrane-associated natural activator protein. // *Biochem J.*, 1993, v.290, p.191-197.
29. Arends M.J., Morris R.G., Wyllie A.H. Apoptosis. The role of endonucleases. // *Am. J. Physiol.*, 1990, v.136, p.593-608.
30. Saido T.C., Sorimachi H., Suzuki K. Calpain: new perspectives in molecular diversity and physiological-pathological involvement. // *FASEB J.*, 1994, v.8, p.814-822.
31. Nicholls D.G. The regulation of extramitochondrial free calcium ion concentration by rat liver mitochondria. // *Biochem. J.*, 1978, v.176, p.463-474.
32. Di Lisa F., Bernardi P. Mitochondrial function as a determinant of recovery or death in cell response to injury. // *Mol. Cell. Biochem.*, 1998, v.184, p.379-391.
33. Broekmeier K.M., Iben J.R., LeVan E.G., Crouser E.D., Pfeiffer D.R. Pore formation and uncoupling initiate a Ca^{2+} -independent degradation of mitochondrial phospholipids. // *Biochemistry*, 2002, v.41, p.7771-7780.