

## **Ca<sup>2+</sup>/H<sup>2+</sup> ANTIPORTER ACTIVITY IN RAT LIVER MITOCHONDRIA IN DIFFERENT STATES OF THYROID FUNCTION**

**Karimova Shaira Fatkhullaevna**

cand. biol. Sciences, Associate Professor,  
Department of Medical and Biological Chemistry, Medical Biology,  
general genetics of the Tashkent Pediatric Medical Institute,  
100140, Republic of Uzbekistan, Tashkent, Yunusabad district, st. Bogishamol,  
E-mail: kshf 53@mail.ru

**Ismailova Gulzira Orinbaevna**

cand. chem. Sciences, Associate Professor,  
Department of Medical and Biological Chemistry, Medical Biology, General Genetics, Tashkent Pediatric  
Medical Institute,  
100140, Republic of Uzbekistan, Tashkent, Yunusabad district, st. Bogishamol,

**Karimova Shaira Fatkhullaevna**

cand. biol. Sciences, Associate Professor,  
Department of Medical and Biological Chemistry, Medical Biology,  
general genetics of the Tashkent Pediatric Medical Institute,  
100140, Republic of Uzbekistan, Tashkent, Yunusabad district, st. Bogishamol,  
E-mail: kshf 53@mail.ru

**Ismailova Gulzira Orinbaevna**

cand. chem. Sciences, Associate Professor,  
Department of Medical and Biological Chemistry, Medical Biology, General Genetics, Tashkent Pediatric  
Medical Institute,  
100140, Republic of Uzbekistan, Tashkent, Yunusabad district, st. Bogishamol,

**Annotation.** The article discusses data on the regulation of Ca<sup>2+</sup>/2H<sup>+</sup>-antiporter activity by thyroid hormones. It was shown that after thyroidectomy, the calcium capacity of rat liver mitochondria increases. The administration of physiological concentrations of thyroxine to thyroidectomized rats reduces the calcium capacity almost to the norm, and in hyperthyroidism the calcium capacity is much lower than the control one.

**Key words:** thyroid hormones; Ca<sup>2+</sup>/H<sup>2+</sup>-antiporter; cytoplasm; mitochondria

## **АКТИВНОСТЬ Ca<sup>2+</sup>/H<sup>2+</sup> АНТИПОРТЕРА В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ ПРИ РАЗЛИЧНОМ СОСТОЯНИИ ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Каримова Шайра Фатхуллаевна**

канд. биол. наук, доцент,  
кафедра медицинской и биологической химии, медицинской биологии,  
общей генетики Ташкентского педиатрического медицинского института,  
100140, Республика Узбекистан, г. Ташкент, Юнусабадский район, ул. Богишамол,  
E-mail: kshf 53@mail.ru

**Исмаилова Гулзира Оринбаевна**

канд. хим. наук, доцент,  
кафедра медицинской и биологической химии, медицинской биологии, общей генетики  
Ташкентского педиатрического медицинского института,  
100140, Республика Узбекистан, г. Ташкент, Юнусабадский район, ул. Богишамол,  
**Авлиёхужаева Муниса**

бакалавр,

Ташкентского педиатрического медицинского института,  
100140, Республика Узбекистан, г. Ташкент, Юнусабадский район, ул. Богишамол,**Мирмахмудова Саодат Иноятовна**

канд. биол. наук.

**Аннотация.** В статье рассматриваются данные о регуляции активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера тиреоидными гормонами. Показано, что после тиреоидэктомии увеличивается кальциевая емкость митохондрий печени крыс. Введение же физиологических концентраций тироксина тиреоидэктомированным крысам снижает кальциевую емкость практически до нормы, а при гипертиреозе кальциевая емкость значительно ниже контрольной.

**Ключевые слова:** тиреоидные гормоны;  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  антипортер; цитоплазма; митохондрии.

**Введение.** Хорошо известно, что увеличение концентрации ионизированного  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле гепатоцитов приводит к стимуляции глюконеогенеза вследствие активации фосфоэнолпируваткарбоксихиназы и ингибирования пируваткиназы.

Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  являются универсальным регулятором метаболических процессов [1, 2]. Одним из механизмов, регулирующих концентрацию ионизированного  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле, является его транспорт в митохондрии [9, 10]. Известно, что тиреоидные гормоны влияют на активный транспорт ионов  $\text{Ca}^{2+}$  *in vivo* и *in vitro* [3,4]. Можно полагать, что гормоны могут оказывать свое действие на метаболизм; изменяя распределение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  между митохондриями и цитозолем. В последние годы установлено, что транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях печени осуществляется двумя переносчиками, причем  $\text{Ca}^{2+}$ -юнипортер осуществляет электрофоретический транспорт из цитозоля в митохондрии,  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортер осуществляет выведение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из митохондрий в обмен на ионы  $\text{H}^{+}$  [5,6, 7].

В связи с тем что изменение активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера митохондрий при изменении гормонального статуса организма может влиять на концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле, нами было исследовано влияние тиреоидэктомии и гипертиреоза на активность  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера в митохондриях печени крысы.

**Методика исследования.** Митохондрии печени крыс выделяли в 0,3 М сахарозе, содержащей 5 мМ трис-НСl pH 7,4 при 5000 g. Транспорт ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях измеряли ион-селективным  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительным электродом и pH-метрическим методом по кинетике  $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$  - обмена в присутствии фосфата. Кинетику набухания митохондрий измеряли по изменению их оптической плотности при 540 нм. В экспериментах с тиреоидэктомией использовали самцов массой 100 г. Через 4 мес после операции тиреоидэктомированные крысы имели массу 130—160 г, контрольные — 250—280 г. Гипертиреоз вызывали внутрибрюшинным введением тироксина в дозе 100 мкг/100 г ежедневно в течение 4 дней.

**Результаты исследования.** При тиреоидэктомии увеличивается кальциевая емкость митохондрий печени крыс (количество ионов Ca которое аккумулируется митохондриями до начала самопроизвольного выхода  $\text{Ca}^{2+}$  из митохондрий). Введение физиологических концентраций тироксина тиреоидэктомированным крысам снижает кальциевую емкость практически до нормы, а при гипертиреозе кальциевая емкость значительно ниже контрольной. Как видно из результатов, существует достаточно хорошая корреляция между изменением кальциевой емкости митохондрий печени и скоростью выхода ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из митохондрий при добавлении рутениевого красного. Так как выход ионов кальция осуществляется  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортером, нечувствительным к рутениевому красному [6, 7], можно сделать вывод о том, что при тиреоидэктомии ингибируется, а при гипертиреозе стимулируется проявление активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера в условиях проведения нашего эксперимента. Снижение кальциевой емкости митохондрий при увеличении концентрации тиреоидных гормонов в плазме, по-видимому, является следствием увеличения рециклизации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях, обусловленного повышением активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера. Ранее было

показано, что при тиреотоксикозе снижается кальциевая емкость митохондрии печени крыс, но увеличение кальциевой емкости при тиреоидэктомии было относительно невелико [1, 2] по сравнению с результатами наших экспериментов. По-видимому, это объясняется тем, что наши эксперименты проводились через 4 мес после тиреоидэктомии, в то время как в указанных работах – через 3-4 нед. Одно из возможных объяснений увеличения активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера заключается в том что тиреоидные гормоны увеличивают чувствительность митохондрий печени к повреждению ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и фосфата *in vitro*, вследствие чего активация  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -обмена *in vitro*, которая имеет место при нагрузке ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и добавлении фосфата [12], сильнее и быстрее проявляется в митохондриях из печени гипертиреоидных крыс. Косвенно в пользу такого объяснения свидетельствуют эксперименты, в которых исследовали влияние тиреоидного статуса на высокоамплитудное фосфатиндуцируемое набухание и увеличение активности митохондриальной фосфолипазы  $\text{A}_2$  при инкубации митохондрий печени *in vitro* [4]. Тиреоидэктомия ингибирует, а введение тироксина *in vivo* стимулирует высокоамплитудное фосфатиндуцируемое набухание митохондрий печени. В сходных условиях гипертиреоз усиливает проявление активности фосфолипазы  $\text{A}_2$  в митохондриях печени *in vitro* [4]. Следовательно, увеличение активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -обмена тиреоидными гормонами может быть обусловлено лабилизацией митохондрий к действию повреждающих факторов *in vitro*. Тем не менее связь между активностью  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера и повреждением митохондрий экзогенным кальцием и фосфатом не укладывается в схему повреждение увеличение  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -обмена, так как ингибирование рециклизации эндогенного  $\text{Ca}^{2+}$  рутениевым красным предотвращает повреждение митохондрий в условиях фосфатиндуцируемого высокоамплитудного набухания митохондрий (7). Следовательно, наличие корреляции между активностью  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -обмена и устойчивостью митохондрий к повреждению *in vitro* может объясняться тем, что увеличение рециклизации  $\text{Ca}^{2+}$  является фактором, стимулирующим активацию фосфолипазы  $\text{A}_2$  и повреждение митохондрий. Если это так, то и стимуляция фосфатиндуцируемого набухания тиреоидными гормонами является следствием увеличения активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера.

В пользу того что первично не повреждение митохондрий, а увеличение активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера *in vivo*, свидетельствуют и эксперименты по измерению кинетики набухания деэнергизованных митохондрий в изоосмотических растворах  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  при pH 8,1. В этих условиях скорость набухания лимитируется проницаемостью мембраны митохондрий для ионов  $\text{Ca}^{2+}$  [9]. В связи с этим ингибирование набухания при тиреоидэктомии и стимуляция при введении тиреоидных гормонов *in vivo* рассматриваются как увеличение скорости пассивного транспорта ионов  $\text{Ca}^{2+}$  через мембрану митохондрий. Этот эффект особенно четко проявляется в присутствии рутениевого красного.

**Выводы.** Следовательно, тиреоидные гормоны *in vivo* регулируют активность рутений-нечувствительного  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера в митохондриях печени крыс. Этот эффект не может быть связан с изменением активности фосфолипазы  $\text{A}_2$ , так как в присутствии разобщителей повреждение митохондрий, обусловленное активацией фосфолипазы  $\text{A}_2$ , не происходит [14].

Регуляция активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера тиреоидными гормонами может иметь отношение как к стимуляции основного обмена, так и к активации глюконеогенеза в гепатоцитах тиреоидными гормонами. Хорошо известно, что увеличение концентрации ионизированного  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле гепатоцитов приводит к стимуляции глюконеогенеза вследствие активации фосфоэнолпируваткарбоксихиназы и ингибирования пируваткиназы. В связи с этим увеличение активности  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера тиреоидными гормонами должно приводить к увеличению концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и стимуляции глюконеогенеза. В то же время увеличение потребления энергии на рециклизацию  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях вследствие активации  $\text{Ca}^{2+}/2\text{H}^{+}$ -антипортера может быть одним из механизмов стимуляции потребления кислорода печенью при увеличении концентрации тиреоидных гормонов в плазме.

## Использованная Литература

1. Бабич Л. Г., С. Г. Шлыков, С. А. Костерин (2014) №6, Биохимический журнал Украины. Транспорт ионов  $Ca^{2+}$  в митохондриях гладких мышц.
2. Белослудцев К.Н., Дубинин М.В., Белослудцева Н.М., Миронова Г.Д. (2019) Транспорт ионов  $Ca^{2+}$  митохондриями: механизмы, молекулярные структуры и значение Биохимия том 84, №6, 759-775.
3. Гагельганс А. И. (1970). Транспорт ионов в митохондриях и действие тиреоидных гормонов. Автореф. дис. канд. Ташкент.
4. Кубарко А.И, S.Yamashita (1998). Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты. Минск, Нагасаки.
5. Непряхина О.К. (2009) Автореф. дис. докт Изучение динамики митохондриального ретикулула при окислительном стрессе.
6. Холмухамедов, Э. Л. 2009 . Автореф. дис. докт. Москва, Роль митохондрий в обеспечении нормальной жизнедеятельности и выживания клеток млекопитающих.
7. Ana Paula Arruda and Gökhan S. Hotamisligil (2015). Calcium homeostasis and organelle function in the pathogenesis of obesity and diabetes. Cell Metab. Sep 1; 22(3): 381–397.
8. Berridge MJ. Calcium signalling remodelling and disease. (2012). Biochem Soc Trans. 40:297
9. Rizzuto R, De Stefani D, Raffaello A, Mammucari C. (2012). Mitochondria as sensors and regulators of calcium signalling. Nature reviews Molecular cell biology.; 13:566–578.
10. R. Rizzuto, and T. Pozzan, (2006). Microdomains of intracellular  $Ca^{2+}$ : molecular determinants and functional consequences. Physiol Rev 86 369-408.