

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

კესო კოზმავა

თიროიდული ჯირკვლის ecto- HCO_3 –ATPაზა და მისი ზოგიერთი
კინეტიკური მახასიათებელი

სამაგისტრო პროგრამა „ბიოლოგია“

ნაშრომი შესრულებულია ივანე ჯავახიშვილის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის,
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის, ბიოლოგიის დეპარტამენტის,
ბიოქიმიის მიმართულებაზე ბიოლოგიის მაგისტრის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელი : ბ.მ.დ. პროფ. ნანა კოშორიძე
ბ.დ. ასისტ. პროფ. ქეთევან მენაბდე

თბილისი 2017

სარჩევი

ანოტაცია.....	2
შესავალი.....	4
თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა	5
I.1. ფარისებრი ჯირკვლის აგებულება.....	5
I.2. ფარისებრი ჯირკვლის ჰორმონები	6
I.3. სამიზნე უჯრედებზე თიროიდული ჰორმონების მოქმედების მექანიზმი.....	8
I.4. თიროიდული ჰორმონების არაგენომური მოქმედება.....	9
I.5. ფარისებრი ჯირკვლის პათოლოგიები.....	10
I.6. სატრანსპორტო ATP-აზები და მათი კლასიფიკაცია.....	14
I.6.1 P-ტიპის ატაზები.....	15
I.6.2 Ecto -ატაზა.....	16
I.7 HCO ₃ ⁻ -ფიზიოლოგიური როლი და Mg ²⁺ -HCO ₃ ⁻ ATPაზა.....	17
 თავი II. კვლევის ობიექტები და მეთოდები.....	20
II.1 კვლევის ობიექტი.....	20
II.2. HCO ₃ ⁻ -ATPაზური აქტივობის განსაზღვრა.....	20
II.3. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით.....	21
 თავი III. მიღებული შედეგები.....	22
თავი IV. მიღებული შედეგების განხილვა.....	36
დასკვნა.....	41
გამოყენებული ლიტერატურა.....	42

ანოტაცია

ადამიანის თიროიდული ჯირკვლის ქსოვილში აღინიშნება $\text{HCO}_3\text{-ATPase}$ -ს არსებობა, რომელიც განსხვავებულ აქტივობას ავლენს ზოგიერთი პათოლოგიის, მაგალითად ფოლიკულური კარცინომის, ადენომისა და დიფუზურ-ტოქსიკური ჩიყვის შემთხვევაში. ცნობილია, რომ $\text{HCO}_3\text{-ATPase}$, რომელიც აქტივობის გამოვლენისათვის საჭიროებს Mg^{2+} -ის არსებობას, მონაწილეობს დებულობს HCO_3^- -იონის ტრანსპორტირებაში და ამით აქტიურადაა ჩართული უჯრედშიდა pH-ის რეგულირების პროცესში. თუმცა რა ფუნქციას ასრულებს ეს ფერმენტი პათოლოგიური მდგომარეობის შემთხვევაში და როგორ იცვლება მახასიათებლები, უცნობია.

ამის გათვალისწინებით, ჩვენი ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა, შეგვესწავლა ლაბორატორიული თეთრი ვირთაგვას თიროიდული ჯირკვლის პლაზმური მემბრანის Mg^{2+} -ით აქტივირებული, HCO_3^- -ით სტიმულირებული ATPase -ს აქტივობის ზოგიერთი მახასიათებელი როგორც ნორმაში, ასევე ჰიპოთირეოზის შემთხვევაში.

თიროიდული ჯირკვლის პლაზმურ მემბრანაში სატრანსპორტო Mg^{2+} - დამოკიდებულ HCO_3^- - ATPase -თან (Mg-HCO_3^- - ATPase) ერთად ნანახია ასევე ecto- ATPase -ის ტიპის HCO_3^- - ATPase , რომლის აქტივობა არ არის დამოკიდებული Mg^{2+} -იონზე და მის სუბსტრატს წარმოადგენს თავისუფალი ატფ (ecto- HCO_3^- - ATPase). ecto- HCO_3^- - ATPase -ური აქტივობა განსაკუთრებით მატულობს ჰიპოთირეოზის პირობებში. შესწავლილია Mg^{2+} - დამოკიდებული ecto- HCO_3^- - ATPase -ს ზოგიერთი კინეტიკური მახასიათებელი, კერძოდ აქტივობის დამოკიდებულება HCO_3^- -იონისა და სუბსტრატის (თავისუფალი ატფ) რაოდენობრივ შემცველობაზე, ასევე სარეაქციო არის pH-სადმი. ნანახია, რომ ecto- HCO_3^- - ATPase -ს მახასიათებლები განსხვავდება Mg-HCO_3^- - ATPase -საგან, რაც იძლევა საფუძველს ვივარაუდოთ, რომ ეს ორი ფერმენტი ფუნქციონირებს ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად და თიროიდული ჯირკვლის უჯრედებში მიმდინარე სხვადასხვა, განსხვავებულ პროცესებში არიან ჩართული.

Annotation

The human thyroid gland tissue is characterized by the presence of HCO_3^- -ATPase, which shows a different activity in some pathologies, such as follicular carcinoma, adenoma and diffuse-toxic goiter. It is known that the HCO_3^- -ATPase, which requires the presence of Mg^{2+} , is involved in transporting HCO_3^- ion and in this way it is actively involved in the pH regulation process. However, what function is performed by this enzyme in the case of pathological condition and how the characteristics change, is unknown

By taking into consideration all of these, the aim of our thesis was to study the thyroid gland plasma membrane of white rats, which is activated by Mg^{2+} and stimulated by HCO_3^- -ATPase in both normal and hypothyroidism cases.

Plasma membrane thyroid gland, apart from the transport Mg-independent HCO_3^- -ATPase, has been found to contain also HCO_3^- -ATPase of ecto-ATPase type, whose activity is not conditioned by the Mg-ion and with substrate in the form of free ATP (ecto- HCO_3^- -ATPase). Activity of such kind is found in both healthy cells and those affected by carcinoma. However, in the latter cells, this characteristic of the enzyme is much higher than the norm. We studied certain kinetic properties of the Mg-independent HCO_3^- -ATPase, namely relation of its activity to the quantitative content of the HCO_3^- -ions and the substrate (free ATP), as well as the pH of the reaction medium. Experiments showed that properties of ecto- HCO_3^- -ATPase are different from those of Mg- HCO_3^- -ATPase, which allows for a conclusion that the two enzymes can function independently and are involved in different processes in progress in thyroid gland cells.

შესავალი

ბოლო წლებია მეცნიერთა ყურადღება მიიპყრო ცხოველურ უჯრედში აღმოჩენილმა Mg-ით სტიმულირებულმა HCO_3^- -ATPაზამ, რომელიც მიეკუთვნება ე.წ. ანიონური ატფაზების ჯგუფს. ეს ფერმენტი აღმოჩენილია სხვადასხვა ცხოველის განსხვავებულ ქსოვილებში. მაგალითად, კუჭქვეშა და ყბისქვეშა ჯირკვლებში, ასევე თიროიდულ ჯირკვალში, ღვიძლში, მიტოქონდრიებში, პლაზმურ მემბრანაში. ცხოველური უჯრედების გარდა, HCO_3^- -ATPაზა ნანახია ასევე მცენარეულ უჯრედებშიც, სადაც ძირითადად ლოკალიზირებულია მიტოქონდრიებსა და ქლოროპლასტებში. ნავარაუდევია ამ ფერმენტის მონაწილეობა მემბრანაში ბიკარბონატის იონის აქტიურ ტრანსპორტსა და ასევე pH-ის რეგულირების პროცესში. დადგენილია, რომ ეს ფერმენტი მიეკუთვნება სატრანსპორტო P-ATPაზების ჯგუფს. როგორც ცნობილია, P-ATPაზების გარდა, განიხილება ასევე სხვა ტიპის ATPაზები, რომლებსაც ecto-ATPაზებს უწოდებენ. ამ ტიპის ფერმენტები ასევე ლოკალიზირებულია პლაზმურ მემბრანაზე, თუმცა P-ATPაზებისაგან განსხვავებით აწარმოებენ უჯრედგარე სივრცეში ატფ-ის ჰიდროლიზურ დაშლას. არსებობს მოსაზრება იმის შესახებ, რომ აღნიშნული ფერმენტები ჩართული არიან მთელი რიგი პათოლოგიური პროცესების ფორმირებასა და ჩამოყალიბების პროცესში.

აღნიშნულიდან გამომდინარე, ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა შეგვესწავლა HCO_3^- -იონით აქტივირებული ecto-ATPაზა ლაბორატორიული ვირთაგვას თიროიდულ ჯირკვალში, დაგვედგინა მისი ზოგიერთი კინეტიკური პარამეტრი, კერძოდ მგრძნობელობა ორვალენტიანი იონების, pH-სიდიდისა და ზოგიერთი დეტერგენტის მიმართ, რაც მოგვცემდა საშუალებას ამ ფერმენტის მონაწილეობისა თიროიდულ ჯირკვალთან დაკავშირებული პათოლოგიების, მაგალითად ჰიპოტირეოზული მდგომარეობის პირობებში.

თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა

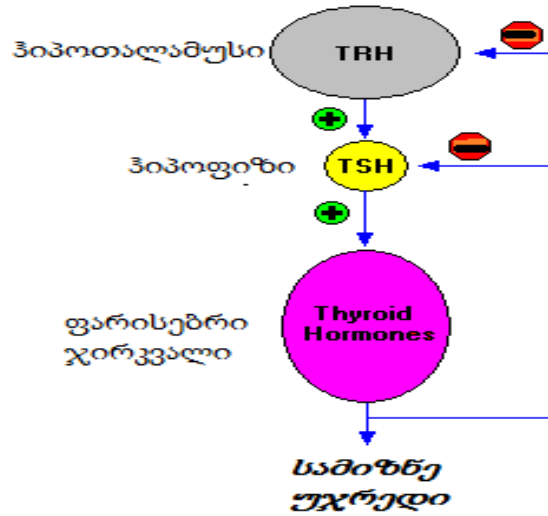
I.1. ფარისებრი ჯირკვლის აგებულება

ფარისებრი ჯირკვალი წარმოადგენს უმნიშვნელოვანეს ენდოკრინულ ორგანოს. ამ ჯირკვლის სტრუქტურა და ფუნქცია აღმოჩენილი იყო XVII საუკუნეში, თუმცა კვლევები გრძელდებოდა XIX საუკუნემდე და საბოლოოდ თეოდორ კოხერმა გამოიკვლია მისი ფიზიოლოგია და პათოლოგია .

ფარისებრი ჯირკვალი ორგანიზმის ყველაზე დიდი ენდოკრინული ჯირკვალია კისრის მიდამოშია მოთავსებული. მისი წონა დაახლოებით 25 გრამს შეადგენს. ჯირკვალი შედგება ორი ერთმანეთთან დაკავშირებული მარჯვენა და მარცხენა წილისაგან. ჯირკვალს გარს აკრავს კაფსულა, რომელიც წარმოდგენილია მკრივი, უფორმო ბოჭკოვანი შემაერთებელი ქსოვილით. კაფსულიდან შიგნით შედის შემაერთებელქსოვილოვანი ტიხრები_ სეპტები, რომლებითაც ჯირკვლის პარენქიმაში შედის სისხლძარღვები, ლიმფური ძარღვები და ნერვები.[1]

ფარისებრი ჯირკვლის პარენქიმა წარმოდგენილია დახშული ბუმბუტუკებით - ფოლიკულებით. ფოლიკულა ფარისებრი ჯირკვლის სტრუქტურული და ფუნქციური ერთეულია. ის წარმოადგენს დახშულ ბუმბუტუკებს, რომლის სიღრუე ამოვსებულია სპეციფიკური სეკრეტით - კოლოიდით.კოლოიდი ბლანტი, წებოვანი, ჰომოგენური, მოყვითალო ფერის სითხეა. მისი კონსისტენცია ძლიერ ცვალებადია და დამოკიდებულია ჯირკვლის ფუნქციურ მდგომარეობაზე. ჯირკვალში შემავალი იოდის 95% კოლოიდშია. ფოლიკულური უჯრედების - *თიროციტების* გარდა გვხვდება პარაფოლიკულური უჯრედები, რომლებიც გამოიმუშავენ თირეოკალციტონინს.[2]

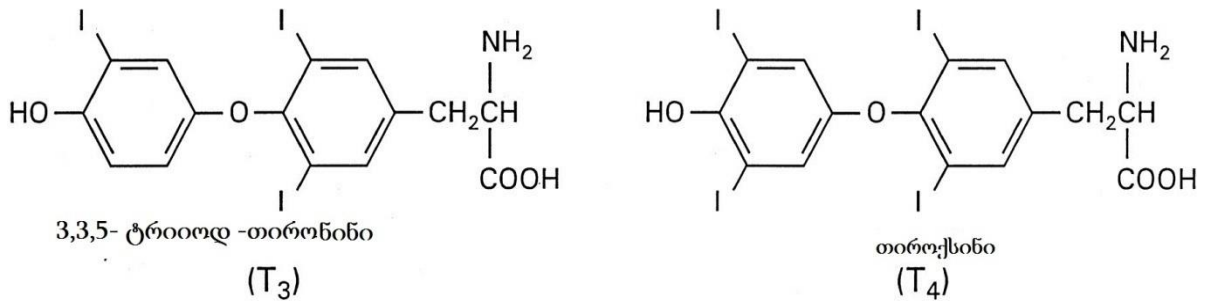
ფარისებრი ჯირკვლის მუშაობა რეგულირდება ჰიპოფიზის *თირეოტროპული ჰორმონით*(TSH). თავის მხრივ, TSH-ის სეკრეცია რეგულირდება ჰიპოთალამუსის*თირეოტროპინ-რილიზინგ ჰორმონით-თიროლიბერინით* და სისხლში არსებული თავისუფალი თირეოიდული ჰორმონებით[3].



თიროიდული ჰორმონების სეკრეციის მექანიზმი.

I.2. ფარისები ჯირკვლის ჰორმონები

ფარისებრ ჯირკვალში გამომუშავებული ჰორმონები (თჰ) აუცილებელია ორგანიზმის ნორმალური ზრდა-განვითარებისათვის. [4]. ზრდასრულ ორგანიზმში თჰ-ის მოქმედება ვლინდება მეტაბოლიზმის ცვლილებით, მათ შორის ცვლილებები აღინიშნება ჟანგბადის მოხმარებაში, ასევე ცილების, ნახშირწყლების, ლიპიდებისა და ვიტამინების მეტაბოლიზმში [5]. თჰ-ის წარმოქმნა ხდება გლიკოპროტეინული ბუნების *თირეოგლობულინის* თიროზინის ამთების იოდირების შედეგად [6]. ფარისებრი ჯირკვალი წარმოქმნის ორ მთავარ იოდთირონინს: 3,5,3',5',- ტეტრაიოდთირონინს (თიროქსინიანუ T4) და 3,5,3'-ტრიოდ-L-თირონინს (T3).



თუმცა ტრი- და ტეტრათირონინების გარდა, წარმოიქმნება ასევე მონო- და დიოდთირონინები, რომლებიც მოკლებული არიან ჰორმონალურ თვისებებს.

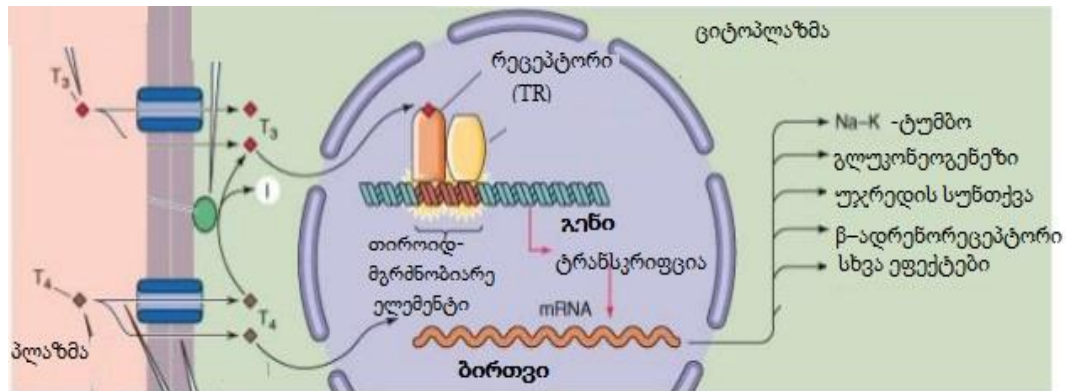
სისხლში T4-ისა და T3-ის უმეტესი ნაწილი ცირკულირებს სპეციალურ სატრანსპორტო ცილებთან დაკავშირებული ფორმით. ეს ცილებია თიროქსინ-შემაკავშირებელი გლობულინი, თიროქსინ-შემაკავშირებელი პრეალბუმინი და ალბუმინი. ჰორმონების მხოლოდ მცირე ნაწილია თავისუფალი სახით პლაზმაში და შესაბამისად ბიოლოგიურად აქტიური. ცირკულაციაში მყოფი T4-ის ყველა მოლეკულა სინთეზირებულია ფარისებრი ჯირკვლის მიერ, მაშინ როდესაც T3-ის უმეტესი ნაწილი (დაახლოებით 80%) წარმოიქმნება პერიფერიულ ქსოვილებში T4-ის დეიოდირების შედეგად. T3 შემდგომში კვლავ დეიოდირდება და მიიღება 3,3'-T2 და სავარაუდოდ, ასევე 3,5-T2 [7; 8]. თიროიდული ჰორმონების დეიოდირებას ახორციელებს სამი ფერმენტი: *I ტიპის დეიოდინაზა* (D1), რომელიც უპირატესად გვხვდება ღვიძლში, ასევე თირკმელში, ფარისებრ ჯირკვალში და ჰიპოფიზში; *II ტიპის დეიოდინაზა* (D2), გვხვდება ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში, ჰიპოფიზის წინა წილში, რუხ ცხიმოვან ქსოვილში და პლაცენტაში; *III ტიპის დეიოდინაზა* (D3), გვხვდება ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში, პლაცენტაში, კანში და ნაყოფის ქსოვილებში [9].

თჰ-ს ჰიდროფობური ბუნების მიუხედავად, მათ არ შეუძლიათ მარტივი დიფუზიის გზით პლაზმურ მემბრანაში გასვლა, ამიტომ პერიფერიული ქსოვილების მიერ თჰ-ის შეთვისება ხორციელდება სპეციფიკური მემბრანული სატრანსპორტო ცილებით [9]. იდენტიფიცირებულია მემბრანული ტრანსპორტერების რამდენიმე ოჯახი, მათ შორის განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს მონოკარბოქსილური მჟავების ტრანსპორტერების (MCT) ოჯახი. აღნიშნული ცილების ოჯახს მიაკუთვნებენ თოთხმეტ ცილას, თუმცა ლიგანდ- დამაკავშირებელი უბანი მათგან მხოლოდ ექვსისთვისაა იდენტიფიცირებული. MCT8 და MCT10 მიჩნეულია თჰ-ს სპეციფიკურ ტრანსპორტერებად. ამასთან, MCT8-ს მაღალი სპეციფიკურობა ახასიათებს მხოლოდ თჰ-ის მიმართ, ხოლო MCT10-ს სხვა ამინომჟავების გადატანის უნარიც გააჩნია. მიუხედავად იმისა, რომ ფარისებრი ჯირკვლის სეკრეციის მთავარ პროდუქტს თიროქსინი წარმოადგენს, ბიოლოგიური ეფექტების უმეტესობა, რომელთაც ფარისებრი ჯირკვლის ჰორმონებს მიაწერენ, ტრიოდთირონინის მიერ ხორციელდება [10]. თიროიდული ჰორმონების მოქმედება დამოკიდებულია ქსოვილისა და უჯრედის ტიპზე და მოიცავს გენომურ და არაგენომურ მოქმედებას [11].

I.3. სამიზნე უჯრედებზე თიროიდული ჰორმონების მოქმედების მექანიზმი

თიროიდული ჰორმონების გენომური მოქმედება გულისხმობს თიროიდული ჰორმონების ასეულობით სამიზნე გენის ტრანსკრიფციის რეგულაციას. თიროიდული ჰორმონები ახდენენ მათი სამიზნე გენების უმეტესობის გააქტივებას, ხოლო ზოგიერთი მათგანის სუპრესია [12; 13].

თიროიდული ჰორმონების გენომური მოქმედების ეფექტი ხორციელდება მათი დაკავშირებით შესაბამის ბირთვულ რეცეპტორებთან (TRs) [14]. ამასთან, ბირთვულ რეცეპტორს) გაცილებით მაღალი თვისობა გააჩნია T3-ის მიმართ, ვიდრე T4-ის მიმართ. TRs კოდირდება α და β *c-erbA* გენებით, რომლებიც მდებარეობენ მე-17 და მე-3 ქრომოსომებშია ლოკალიზირებული და ამდენად, გააჩნიათ სპლაისინგით მიღებული რამდენიმე იზოფორმა. *c-erbA* α აკოდირებს ერთ T3-ის დამაკავშირებელ სპლაის პროდუქტს - *TR α 1*-ს, რომელიც უპირატესად თავის ტვინში გულსა და ჩონჩხის კუნთებში გვხვდება და ორ T3-ის არადამაკავშირებელ სპლაის- პროდუქტს - *TR α 2*-ს და *TR α 3*-ს [15; 16]



თიროიდული ჯირკვლის ჰორმონების რეცეპტორები და მათ მიერ განხორციელებული ეფექტები

c-erbA β გენი აკოდირებს სამ T3-ის დამაკავშირებელ სპლაის პროდუქტს: *TR β 1*-ს, რომელიც ფართოდაა წარმოდგენილი სხვადასხვა ქსოვილში, *TR β 2*-ს - ექსპრესირდება ძირითადად თავის ტვინში, ბადურასა და შიდა ყურში, და *TR β 3*-ს, რომელიც გვხვდება თირკმელებში, ღვიძლსა და ფილტვებში [17]. აღნიშნული რეცეპტორები შეიცავენ ფუნქციურ დომენებს, კერძოდ, დნმ-

დამაკავშირებელ დომენს (DBD) და ლიგანდ-დამაკავშირებელ დომენს (LBD). DBD შეიცავს დაახლოებით 70 ამინომჟავას და ურთიერთქმედებს დნმ-ის სპეციფიკურ უბანთან - ე.წ. "თიროიდული ჰორმონის საპასუხო ელემენტთან" (TREs). TR α და TR β სტრუქტურულად ერთმანეთის მსგავსია (მათი დნმ- და ლიგანდ-დამაკავშირებელი დომენები მსგავსია) და ერთმანეთისაგან მხოლოდ ამინო-ბოლოზე არსებული უბნებით განსხვავდებიან [18]. თიროიდული ჰორმონების მიერ ტრანსკრიფციის რეგულაცია გულისხმობს შესაბამისი ბირთვული TRs-ის დაკავშირებას თიროიდული ჰორმონების სამიზნე გენების პრომოტორულ უბანში არსებულ TREs-თან (თიროიდული ჰორმონის საპასუხო ელემენტი). ბირთვული TRs შესაძლებელია TREs-ს უკავშირდებოდეს ჰომოდიმერის სახით, ან ჰეტეროდიმერის ფორმით. TRs-თან თიროიდული ჰორმონების დაკავშირების შემთხვევაში, ადგილი აქვს კორეპრესორების ჩამოცილებას და მათ ჩანაცვლებას ტრანსკრიფციული კოაქტივატორებით (მაგ. SRC), რაც განაპირობებს შესაბამისი გენის ექსპრესიას.

აღსანიშნავია, რომ თიროიდული ჰორმონების სამიზნე გენების მხოლოდ შეზღუდულ რაოდენობას გააჩნიათ TRE თავის პრომოტორულ უბანში და ამდენად, ისინი პირდაპირ რეგულირდებიან თჰ/TR-ით [19].

I.4. თიროიდული ჰორმონების არაგენომური მოქმედება

აღწერილია თიროიდული ჰორმონების მრავალი ბიოლოგიური ეფექტი, რომელიც არ მოიცავს თჰ-ის დაკავშირებას ბირთვულ რეცეპტორთან. ითვლება, რომ ამგვარი ეფექტები გულისხმობს თიროიდული ჰორმონების დამაკავშირებელი უბნების არსებობას ბირთვის გარეთ, კერძოდ უჯრედის სხვადასხვა კომპარტმენტზე (პლაზმურ მემბრანაზე, ციტოზონჩხზე, ციტოპლაზმაში და მიტოქონდრიაზე).

გენომური მოქმედებისაგან განსხვავებით, არაგენომური მოქმედება: არ არის დამოკიდებული თიროიდული ჰორმონების ბირთვულ რეცეპტორებზე (I), იგი შესაძლოა განხორციელდეს დროის მოკლე მონაკვეთში (წამებსა და წუთებში) (II) და ამავე დროს შესაძლებელია გაშუალებული იყოს სიგნალის გადამცემი გზებით, მაგ. ციკლური ამფ-ითა და პროტეინკინაზებით (III) [20; 21; 22].

2005 წელს პლაზმური მემბრანებიდან იდენტიფიცირებული იქნა სტრუქტურული ცილა - *αβ3-ინტეგრინი*, რომელიც აღმოჩნდა თიროიდული ჰორმონების რეცეპტორი. დადგინდა, რომ *αβ3-ინტეგრინი* წარმოადგენს ჰეტეროდიმერს, რომელიც ურთიერთქმედებს როგორც უჯრედგარე მატრიქსთან, ასევე თიროიდულ ჰორმონებთან. შემდგომი კვლევებით შესაძლებელი გახდა *αβ3-ის* აქტივაციის მექანიზმების დადგენა და თ3-ის ორი განსხვავებული რეცეპტორული უბნის დახასიათება. კერძოდ, S1 და S2 უბანი, რომლებიც განსხვავდებიან თვისებებით და უჯრედის შიგნით ინიცირებული მოქმედებით [23].

T3-ის არაგენომური მოქმედებით ხდება პლაზმური მემბრანის Na^+/K^+ ატფ-აზას აქტივობის სტიმულირება და ასევე ნატრიუმის ტუმბოს სუბერთეულების პლაზმურ მემბრანაში ჩართვის რეგულაცია [24]. T3-ის მიერ Na^+/K^+ ატფ-აზას აქტივობის კონტროლის მოლეკულური მექანიზმი მოიცავს რამდენიმე სასიგნალო გზის გააქტივებას. ესენია Src კინაზა, ERK 1/2 და PI3K (Lei J, et al, 2008).

ცნობილია, რომ თიროიდული ჰორმონები ზემოქმედებენ კალციუმის უჯრედშიდა ჰომეოსტაზზე და სავარაუდოდ, ეს მოქმედებაც არაგენომური ხასიათისაა [25].

გარდა ზემოთ ჩამოთვლილი თვისებებისა, თ3-ს უნარი აქვთ არაგენომური მოქმედების გზით დაარეგულირონ ცილების შიდაუჯრედული ტრანსპორტი, ასევე პროტეინკინაზა C-ს აქტივობა.

I.5. ფარისებრი ჯირკვლის პათოლოგიები

ფარისებრი ჯირკვლის ჰორმონების რაოდენობრივი და ასევე ჯირკვლის ფუნქციური მდგომარეობიდან გამომდინარე ცნობილი პათოლოგიებიდან განსაკუთრებული სიხშირით გვხვდება რამდენიმე მათგანი.

ჩიყვი - ფარისებრი ჯირკვლის ნებისმიერი გადიდება ჩიყვად მოიხსენიება (ენდემური ჩიყვი, დიფუზურ-ტოქსიკური ჩიყვი, მრავალკვანძოვანი ჩიყვი და სხვა). ჩიყვის სახეობისთვის საერთო მახასიათებელს თმ3-ის მომატებული დონე წარმოადგენს. მარტივი ჩიყვი წარმოადგენს ფარისებრი ჯირკვლის „მცდელობას“ მოახდინოს თიროიდული ჰორმონების შემცირებული წარმოქმნის გარკვეული კომპენსაცია. ჩიყვის გამომწვევი მიზეზები სხვადასხვაა. ის შეიძლება გამოწვეული იყოს როგორც იოდის დეფიციტით, ასევე მისი სიჭარბით. იოდის სიჭარბისას, ჩიყვის ინდუქცია აუტორეგულაციური მექანიზმის მოშლით არის განპირობებული. ჩიყვის განვითარება

ასევე შეიძლება განპირობებული იყოს თიროიდული ჰორმონების მრავალსაფეხუროვანი სინთეზის პროცესის ერთი რომელიმე საფეხურის მოშლით. მაგალითად:

1. იოდიდის ტრანსპორტერის დეფექტით;
2. იოდიზაციის დეფექტით;
3. შეუღლების დეფექტით;
4. დეიოდინაზას დეფიციტით;
5. არასწორად იოდიზირებული ცილების წარმოქმნით.

ჰიპოთიროიდიზმი- ამ პათოლოგიური მდგომარეობის მიზეზია თავისუფალი თ3-ის და თ4-ის არასაკმარისი შემცველობა სისხლში. ჩანასახოვან და ნეონატალურ პერიოდში, ასევე ადრეულ ასაკში განვითარებულმა ჰიპოთირეოდიზმმა შესაძლებელია გამოიწვიოს ისეთი მძიმე პათოლოგიური მდგომარეობა, როგორცაა *კრეტინიზმი*. ამ დაავადებისათვის დამახასიათებელია მძიმე, შეუქცევადი გონებრივი ჩამორჩენილობა. გვიანდელ ასაკში ამ დარღვევის მძიმე ფორმის შედეგად მიქსედემა ვითარდება. ამ დროს ადგილი აქვს ჰორმონების ხანგრძლივ დეფიციტს, რასაც თან სდევს ცნს დარღვევები, გულსისხლძარღვთა, საჭმლის მომნელებელი სისტემის დისტროფია, სხვადასხვა ქსოვილებში ლორწოს დაგროვება და სხვა დარღვევები [26].

ჰიპოთიროიდიზმის განვითარებას ხელს უწყობს სხვადასხვა დარღვევები, რომლებიც შესაძლებელია იყოს პირველადი ან მეორადი მიზეზი. პირველადი ჰიპოთიროიდიზმის მიზეზია:

1. განვითარებითი ან მემკვიდრული დეფექტები;
2. აუტოიმუნური თიროიდოზი (ჰაშიმოტოს დაავადება);
3. ანტითიროიდული პრეპარატების ჭარბი რაოდენობა;
4. ენდემური ჩიყვი;
5. პოსტ-ქირურგიული გართულებები.

მეორადი ჰიპოთიროიდიზმის მიზეზს წარმოადგენს:

1. ჰიპოფიზური დაავადებები;
2. ჰიპოთალამუსის პათოლოგიით განპირობებული ჰიპოთალამუსის ჰორმონების სიმცირე.

ჰიპოთიროიდიზმის ყველაზე გავრცელებულ მიზეზს *ჰაშიმოტის დაავადება* წარმოადგენს, რომლის მიზეზი ჯირკვლის ქსოვილის დესტრუქციაა. ამ ცვლილებებს ორგანიზმის მიერ ანტითირეოგლობულინის და ანტიმიკროსომული აუტოანტისხეულების გამომუშავება, რის გამოც შემცირებულია როგორც თიროიდული ჰორმონების, ასევე ძირითადი მეტაბოლური პროცესების სიჩქარე. ჰაშიმოტოს დაავადების დროს, სისხლში ჩნდება აუტომიკროსომული ანტისხეულების (AMAT) მაღალი ტიტრი. ამ ანტისხეულებს შესწევთ უნარი დაუკავშირდნენ თირეოციტების მიკროსომულ ფრაქციას და გამოიწვიონ უჯრედის ლიზისი. ნაჩვენებია, რომ AMAT-ს აქვს პოტენციური შესაძლებლობა უშუალოდ დააქვეითოს თირეოპეროქსიდაზას აქტივობა, ანუ ინჰიბირებას უკეთებს ჰორმონის სინთეზს [26].

ჰიპოთიროიდიზმის მახასიათებელ ნიშნებს განეკუთვნება: შენელებული გულისცემა, დიასტოლური ჰიპერტენზია, ინერტული ქცევა, ძილის სურვილი, სიცვიისადმი მაღალი მგრძობელობა, მშრალი კანი და თმა.

მემკვიდრული, თანდაყოლილი ჰიპოთიროიდიზმის მიზეზი სხვადასხვა ბიოქიმიური დეფექტებია. მაგალითად, თირეოგლობულინისა და თირეოპეროქსიდაზას დეფიციტით, ასევე თიროიდული ჰორმონებისადმი რეზისტენტობით. თანდაყოლილი ჰიპოთიროიდიზმის მიზეზი შეიძლება იყოს ასევე Na^+/I^- სიმპორტერის მუტაცია [27].

ჰიპერთიროიდიზმი-თიროიდული ჰორმონების ჭარბი რაოდენობით პროდუქცია ჰიპერთიროიდიზმის ან თირეოტოქსიკოზის გამომწვევია. მის მდგომარეობის გამომწვევ მიზეზებს განეკუთვნება:

1. გრეივსის ავადმყოფობა;
2. მრავალკვანძოვანი, ტოქსიკური ჩიყვი;
3. ტოქსიკური ადენომა;
4. თირეიდიტი.

ჰიპერთიროიდიზმის დროს ავადმყოფებში ძირითადი ცვლა მომატებულია 150%-მდე. ცილების კატაბოლიზმის გაძლიერების გამო, ხდება ქსოვილის ოსტეოპოროზის დაკარგვა და ყალიბდება ოსტეოპოროზი. თიროიდული ჰორმონების ტოქსიკური დოზების ზემოქმედებით, ხდება ქსოვილოვანი სუნთქვისა და ჟანგვითი ფოსფორილირების გათიშვა, ცილის სინთეზის შესუსტება და დაშლის გაძლიერება. სიმპტომების ერთობლიობაა: ტაქიკარდია, სისხლის ნაკადის სიჩქარის გაზრდა. ჰიპერთიროიდიზმის დროს შეინიშნება ასევე ნევროზული მდგომარეობა,

მომატებული აგზნებადობა, უძილობა, სისუტე და დარღვევები ღვიძლში, თირკმელებსა და კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში. დასავლეთის ქვეყნებში ჰიპერთიროიდიზმის დროს, ყველაზე უფრო გავრცელებულ მიზეზებს გრეივის იგივე ბაზედოვის ავადმყოფობა განეკუთვნება. გრეივის დაავადება მიეკუთვნება აუტოიმუნურ და მემკვიდრულ დაავადებათა რიცხვს. მის მიზეზს თიროიდ-მასტიმულირებელი იმუნოგლობულინები (თმი) წარმოადგენს. ამ ანტისხეულებს თმ3-ის რეცეპტორების აქტივაციის უნარი გააჩნიათ, რასაც ფარისებრი ჯირკვლის დიფუზური გადიდება თ3-ის და თ4-ის ჭარბი არაკონტროლირებადი წარმოება სდევს თან.

დიფუზურ-ტოკსიკური ჩიყვის მიზეზი არის T-სუპრესორების დეფექტი. T-ჰელპერები სტიმულირებენ B უჯრედებს და გამომუშავდება თიროიდ-მასტიმულირებელი ანტისხეულები (თმაB). კორტიზოლის მიღებისას ირღვევა T-სუპრესორების კონტროლი. თმაB უკავშირდება რეცეპტორს და ამიტომ, ჯირკვალი იმყოფება მისი კონტროლის ქვეშ, და გამომუშავდება თ3 და თ4. იგი სტიმულირებს ჯირკვლის ზრდას ზოგჯერ ძალიან დიდ ზომამდე. ნორმაში ჯირკვლის წონა არის 20 გრ. და ის შესაძლოა 600 გრამამდე გაიზარდოს ამის გამო. თიროიდიტი წარმოადგენს თიროიდული ჯირკვლის ანთებას, რომელიც შეიძლება იყოს გამოწვეული ვირუსული ინფექციით, ან აუტოიმუნური დაავადებით. ვირუსული თიროიდიტი ასოცირებულია ოსტეოპოროზთან, პაროტიტთან და ადენოვირუსთან.

I.6. სატრანსპორტო ATP-აზები და მათი კლასიფიკაცია

პროკარიოტული და ეუკარიოტული უჯრედების ტრანსპორტული ATP აზები შეიძლება დავეოთ ოთხ ძირითად ჯგუფად ესენია: P-ტიპის, V-ტიპის, F-ტიპისა და A-ტიპის ATP აზები. მათი საერთო ნიშანია იონების ტრანსპორტი ATP-ის მაკროერგული ბმის ხარჯზე და ინტეგრალური ცილის ოლიგომერული სტრუქტურა, რომლის სუბერთეულებს ახასიათებთ ჰიდროლიზური, რეგულატორული, არხისა და გადამტანის თვისებები, ე.ი წარმოადგენენ ჭეშმარიტ ტრანსპორტულ მანქანებს [28].

F-ტიპის ATP აზები ნანახია ეუკარიოტების მიტოქონდრიებსა და ქლოროპლასტებში, ასევე ბაქტერიებში; V-ტიპის ATP აზები ნანახია ეუკარიოტების ვაკუოლებსა და ბაქტერიებში; A-ტიპის ATP აზები- ძირითადად წყალმცენარეებში, ხოლო P-ტიპის ATP აზები გვხვდება ყველა ტიპის

უჯრედში, დაწყებული ბაქტერიიდან, დამთავრებული ადამიანით. V-ტიპის ATP აზები შედარებით სუსტად არის შესწავლილი. ვაკუოლური ATP აზები არის მრავალ სუბერთეულიანი კომპლექსები, რომლებიც გვხვდება ყველა ეუკარიოტულ უჯრედში და პასუხისმგებელია შიდაუჯრედულ კომპარტმენტში წყალბადის ტრანსპორტზე. ასეთი კომპარტმენტებია ენდოსომები, სიზოსომები, გოლჯის მემბრანები, კლარიტინით შეფუთული ვეზიკულები, ზოგიერთი ტიპის სეკრეტორული გრანულები, აგრეთვე მცენარეების და საფუარების ცენტრალური ვაკუოლები. ყველა ამ შიდაუჯრედულ კომპარტმენტს აქვს გარკვეული შიდა pH მნიშვნელობა, რომელიც მიიღწევა V-ტიპის ATP აზების ფუნქციონირების შედეგად. ზოგიერთ უჯრედში აღნიშნული ATP აზები შეიძლება მონაწილეობდნენ ისეთ მნიშვნელოვან პროცესებში, როგორცაა რეცეპტორ განპირობებული ენდოციტოზი; პოსტრანსლაციური მოდიფიკაცია; სეკრეტორულ გზებზე ცილების ჩლაგება; ცილების დეგრადაცია და მეორადი ტრანსპორტი; ნეიროტრანსმიტერების გამონთავისუფლება [29].

V-ტიპის, F-ტიპის და A-ტიპის ATP აზების ძირითადი სტრუქტურა მსგავსია და მათ შესაძლოა ჰქონდეთ მოქმედების მსგავსი მექანიზმი. ისინი ც-ის ჰიდროლიზის შედეგად მიღებული ქიმიური ენერჯის საფუძველზე ქმნიან ტრანსმემბრანული იონების ელექტროქიმიურ პოტენციალთა სხვაობას [30]. აღნიშნული ATP -ზები აწარმოებენ H^+ ანდა Na^+ ტრანსპორტს [31].

ყველა ეუკარიოტულ F-ტიპის ATP აზას ATP-ის ჰიდროლიზის ხარჯზე გადააქვს 3-4 H^+ მიტოქონდრიიდან, ანდა ქლოროპლასტების თილაკოიდების შიგნით. ბაქტერიულ F-ტიპის ATP აზებს ATP-ის ჰიდროლიზის ხარჯზე უჯრედიდან გარეთ გამოაქვს 3-4 H^+ , ან და Na^+ . ეს ფერმენტები მუშაობენ აგრეთვე, საწინააღმდეგო მიმართულებითაც, ასინთეზებენ ATP-ს V-ტიპის ATP აზებს შეუძლიათ, ATP-ის ჰიდროლიზის ხარჯზე, გადაქაჩონ 2-3 H^+ , მაგრამ მათ F- ATP აზებისაგან განსხვავებით, არ გააჩნიათ ATP-ის სინთეზის უნარი. ამის მიზეზი შესაძლოა იყოს მემბრანულ სექტორში არსებული ცვლილებები, კერძოდ c სუბერთეულის დუბლიკაცია [32].

I.6.1 P-ტიპის ატპაზები

p-ტიპის ATP აზები ქმნიან ფერმენტთა ფართო ჯგუფს, რომელთა წარმომადგენლები გვხვდება ყველა ტიპის უჯრედში, დაწყებული ბაქტერიებიდან, დამთავრებული ადამიანით. p-ტიპის ATP აზების წარმომადგენლები ასრულებენ სხვადასხვა ფუნქციას. ასე მაგალითად,

გენერირებენ იონურ გრადიენტს, რომელიც ისეთი განხვავებული პროცესების საფუძველია, როგორცაა სასიგნალო ფუნქცია, ენერჯის მარაგის შექმნა და მეორადი აქტიური ტრანსპორტი. ცხოველებში p-ტიპის ATP აზების ზოგიერთი წარმომადგენელი მონაწილეობს კუჭის მუკიანობის შექმნაში; თირკმელებში-სითხის სეკრეციასა და რეაბსორბციის პროცესში; კუნთის რელაქსაციაში; Ca^{2+} დამოკიდებული სიგნალის ტრანსდუქციში და სხვ. სახელწოდება p-ტიპი მიუთითებს, რომ ყველა მათგანი ტრანსპორტის მომენტში წარმოქმნის ფოსფორილირებულ „ინტერმედიატს“ [33].

რეაქციის მსლელობისას ATP-ის მეამე ფოსფატი გადაიტანება აქტიური ცენტრის ასპარაგინის მუკვის კარბოქსილის რადიკალზე, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ფოსფოფერმენტი. აქტიურ ცენტრში ფოსფორის ნაცვლად შეიძლება მაღალი თვისობით ჩანაცვლდეს ვანადატ-იონი, რომელიც წარმოადგენს P-ტიპის ATP ფაზების სპეციფიურ ინჰიბიტორს.

P-ტიპის ATP აზების კლასიფიკაცია დაფუძნებულია მათ ამინომუკავურ შემადგენლობაზე. კერძოდ, ნაკლებად ცვლადი „დაცული“ შუაგულის (conserved core) და არა ძლიერ ვარიანტული N-და C-ტერმინალური უბნების ამინომუკავურ თანმიმდევრებაზე. ამის შედეგად, გამოყოფილ იქნა 159 სხვადასხვა სახის P-ტიპის ATP აზა, რომლებიც დააჯგუფეს მათ მიერ ტრანსპორტირებადი და მუშაობის გამაქტივებელ იონთა სპეციფიკურობის საფუძველზე და გამოყვეს 5 დიდი ჯგუფი. თითოეული ჯგუფი თავის მხრივ, იყოფა ქვეჯგუფებად [34].

I-ჯგუფში შედის გარდამავალი და მძიმე მეტალით აქტივირებული ATP-აზები. IA ქვეჯგუფის ATP აზა ჩართულია K^{+} -ის ტრანსპორტში. IB ჯგუფი, თავის მხრივ, შეიძლება გაიყოს სულ მცირე ორ ქვეჯგუფად, ერთი მოიცავს Cu^{+}/Ag^{+} -ATP-აზას, ხოლო მეორე ქვეჯგუფი ჩართულია გარდამავალი და მძიმე მეტალების ტრანსპორტში.

P-ტიპის ATP აზების II ჯგუფი დაყოფილია 4 განსხვავებულ ქვეჯგუფებად. IIA და IIB ქვეჯგუფის ATP აზები აწარმოებენ Ca^{2+} -ის ტრანსპორტს, კერძოდ IIA ქვეჯგუფს მიეკუთვნება სარკოპლაზმური რეტიკულუმის Ca-ATP-აზა, ხოლო IIB ქვეჯგუფს მიეკუთვნება პროტოპლაზმური მემბრანის Ca-ATP-აზა. IIC ჯგუფი მოიცავს ერთმანეთის მონათესავე Na,K-ATP აზას და ცხოველური უჯერდების H,K-ATP აზას.

IID ქვეჯგუფს მიეკუთვნება სოკოების ATP აზების მცირე რაოდენობა რომელთა ფუნქცია ჯერ-ჯერობით უცნობია.

P-ტიპის ATP ატეფაზების IIIჯგუფი მოიცავს მცენარეებისა და სოკოების H-ATP აზას (IIIA ქვეჯგუფი) და პატრა ქვეჯგუფს, რომელშიც შედის Mg-ATPაზა (IIIB ქვეჯგუფი). აღსანიშნავია, რომ P-IIIA ტიპის ATPაზები სპეციფიკურია მცენარეებისა და სოკოებისთვის, ხოლო P-IIIC ტიპის ATPაზები- ცხოველური უჯრედებისთვის.

ATP აზების ეს ორი ჯგუფი, თუმცა არ არის ერთმანეთის მონათესავე, მაგრამ როგორც ჩანს ასრულებენ დამატებით ფუნქციას მცენარეებში, სოკოებსა და ცხოველებში. სახელდობრ, ისინი ქმნიან ელექტროქიმიურ გრადიენტს, რომელიც გამოიყენება, როგორც ენერჯის წყარო მეორადი ტრანსპორტისათვის.

P-ტიპის ATPაზების IVჯგუფის ზოგიერთი ATPაზა მონაწილეობს ფოსფოლიპიდების ტრანსპორტში. მიუხედავად ამისა P-ტიპის ATPაზების ტრანსპორტის სპეციფიკურობა დავის საგანია.

P-ტიპის ATPაზები, ძირითადად, შედგებიან α და β სუბერთეულებისაგან. A სუბერთეული პასუხისმგებელია იონების ტრანსპორტისა და ATP-ის ჰიდროლიზზე. B გლიკოზირებული სუბერთეული კი არ მონაწილეობს იონების ტრანსპორტში, მაგრამ მნიშვნელოვანია $\alpha\beta$ კომპლექსის მემბრანაში განთავსებისათვის. იგი უზრუნველყოფს სუბერთეულის მემბრანაში ჩასმის გაადვილებას, პოსტრანსლაციურ პროცესში სუბუჯრედული მემბრანის კარგ მონიშვნასა და კატალიზური სუბერთეულის სტაბილიზაციას [35].

I.6.2 Ecto -ატეფაზა

გასული საუკუნის მეორე ნახევარში ცნობილი გახდა ისეთი ფერმენტების არსებობის შესახებ, რომელთაც აქვს ექსტრაუჯრედული ATP-ის ჰიდროლიზის უნარი. მკვლევარები სკეპტიციზმით უყურებდნენ უჯრედის მემბრანის გარეთ ATP-ის დაკავშირების უზნის არსებობას და ფიქრობდნენ, რომ ATP მკაცრად შიდაუჯრედულია. შემდგომმა გამოკვლევამ ნათელი გახადა ამ ATP-აზები არსებობა და გამოიკვეთა მათი საერთო დამახასიათებელი ნიშნები: 1. აქტივაცია ორვალენტური კათიონებით და ზოგიერთი ანიონით. 2. არ არიან მგრძობიარე P, F და V ტიპის ATP-აზების ინჰიბიტორების მიმართ. 3. აქვთ უნარი ჰიდროლიზი გაუკეთონ ნუკლეოტიდ ტრი,

დი და მონოფოსფატებს. ამ თვისებების გათვალისწინებით შემოღებულ იქნა ახალი ტერმინი E-ტიპის ATP-აზები, რომელიც აერთიანებს ყველა იმ ფერმენტულ სისტემას, რომელსაც ახასიათებს ზემოთ ჩამოთვლილი ნიშნები. ამრიგად ecto-ATP აზები გვევლინებიან E ATP აზები წარმომადგენლებად. ამ ტიპის ATP აზების კვლევის სიახლის გამო ჯერ კდევ ბევრი კითხვის ნიშანი არსებობს. ნომენკლატურის თვალსაზრისით, E ATP აზები აერთიანებს ecto-ATP აზებს(ჰიდროლიზს უკეთებენ ATP-სADP-მდე). Ecto-აპირაზებს (გარდაქმნიანATP-ს დაADP-ს AMP-მდე), ecto-5-ნუკლეტიდაზებს (გარდაქმნიან AMP-ს ადენოზინამდე). სტრუქტურის თაობაზე მიღწეულ იქნა შეთანხმება, რომ მთლიანი ფილოგენეზური ხის ორგანიზმების E ტიპის ATP აზების სტრუქტურა მსგავსია. ხერხემლიანების ecto-ATP აზები წარმოდგენილია 50-60Kda ცილით, რომელიც სხვადასხვა უჯრედებში სხვადასხვა ხარისხითაა გლიკოზილირებული და წარმოადგენს ჰომოპოლიმერს 2-3 მონომერით.

ვარაუდობენ, რომ ecto-ATP აზა, შესაძლოა მნიშვნელოვან როლს თამაშობდეს სინაფსური გადაცემის რეგულაციაში. არის მონაცემები ecto-ATP აზების შესაძლო როლზე ლიმფოციტების ფუნქციონირებაში, თირკმლის დაავადებებში, ეპილეფსიასა და სიმსივნურ პროცესებში [36].

E-ტიპის ATP-აზების შესწავლის სფეროში ყველაზე სუსტი წერტილია აღნიშნული ATP-აზების მოქმედების მოლეკულური მექანიზმი რომლის შესახებაც არაფერი არ არის ცნობილი. სწორედ მოლეკულური მექანიზმის ცოდნაა მათი ფუნქციონალური როლის უკეთ შესწავლის საწინდარი.

1.7 HCO₃⁻-ფიზიოლოგიური როლი და Mg²⁺ -HCO₃⁻-ATP-აზა

ბიკარბონატი არის სასიცოცხლო ტუტე კომპონენტი, რომელიც ინარჩუნებს ადამიანის ორგანიზმის ბუფერული სისტემის ტუტე-მჟავურ ჰომეოსტაზს- pH -ს.

ორგანიზმში CO₂-ის 70-75% გარდაიქმნება ნახშირმჟავად (H₂CO₃) და სწრაფად ბიკარბონატად (HCO₃⁻). ნახშირმჟავასთან ერთად, როგორც ცენტრალური ინტერმედიატის ნაირსახეობა, ბიკარბონატი და წყალი წარმოქმნის ბუფერულ სისტემას, რომელიც ინარჩუნებს საჭირო წონასწორობას და უწყევს სწრაფ წინააღმდეგობას Ph-ფაქტორის ძლიერ ცვლილებებს, როგორც მჟავა, ასევე ტუტე მიმართულებით. ეს ძალიან მნიშვნელოვანია ცენტრალური ნერვული სისტემის

ქსოვილების დასაცავად, სადაც pH-ის ცვლილება ნებისმიერი მიმართულებით შეიძლება დამღუპველი აღმოჩნდეს [37].

არაორგანულ ანიონებს შორის HCO_3^- -წარმოადგენს ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ფიზიოლოგიურად მოქმედ, კატალიზური ფუნქციის მატარებელ ანიონს. ATP-ის, რომელიც აქტივდება HCO_3^- -ით და საჭიროებს Mg^{2+} -ის იონებს, იქნება Mg დამოკიდებული, HCO_3^- -ით სტიმულირებული ATP-ის [38].

HCO_3^- -ATP ატევაზური აქტივობა ასოცირდება როგორც ტუტე ფოსფატაზა. ტუტე ფოსფატაზა შეიცავს Zn და წარმოადგენს მეტალოპროტეინს. EDTA ინჰიბირებს ფერმენტს Zn-ის დაკავშირების გამო აქტიურ ცენტრში. ნანახია, რომ HCO_3^- -ATP ატევაზა და ტუტე ფოსფატაზა ინჰიბირდება EDTA დამატებით Mg-ის თნდასწრებისას. EDTA ინჰიბირებს ორივე ფერმენტს და ეს ინჰიბიცია ორივე შემთხვევაში დაკავშირებულია Zn-ის შემცველობასთან [39].

ნიონურ ATP აზებს შორის გავრცელებულ ფერმენტად ითვლება ბიკარბონატის იონებით აქტივირებული Mg -ATP-ის. MgHCO_3^- -ATP აზა ჰიდროლიზური ფერმენტია. ის გვხვდება სხვადასხვა ცხოველთა კუჭქვეშა ჯირკვლის ლორწოვანაში, ძაღლის ყბისქვეშა ჯირკვალში, ღვიძლში, ცხოველური უჯრედების მიტოქონდრიებში, მცენარეთა მიტოქონდრიებსა და ქლოროპლასტებში, აგრეთვე უჯრედის მემბრანასა და ბაქტერიების ქრომატოფორებში [40; 41].

უფრო მოგვიანებით აღმოჩენილია ცხოველებისა და მცენარეების პლაზმურ მემბრანაში. ამ ATP აზის აქტივობის განსაზღვრით სხვადასხვა ქსოვილებში, კერძოდ გული, თავის ტვინი, ღვიძლი, თურქმელები, დიაფრაგმა, კუჭის ლორწოვანი და ერთთროციტის მემბრანები, ნაჩვენებია იქნა, რომ ყველაზე დიდი რაოდენობით ეს ფერმენტი არის გულსა და დიაფრაგმაში და საერთო სეკრეტორულ ქსოვილებში, ხოლო ყველაზე მცირე რაოდენობით ერთთროციტების მემბრანასა და თავის ტვინში. ფერმენტის აქტიურობა არეში HCO_3^- იონის შეტანით იზრდება [40]. ნავარაუდევია ამ ფერმენტის მონაწილეობა მემბრანაში ბიკარბონატის იონების აქტიური ტრანსპორტის პროცესში და Ph რეგულაციაში.

ადამიანის ფარისებრი ჯირკვლის ქსოვილში შესწავლილია Mg^{2+} -დამოკიდებული, HCO_3^- -ით სტიმულირებული ATP აზის არსებობა. დადგენილია ფერმენტის განაწილება ჯირკვლის ქსოვილის სუბუჯრედულ ფრაქციებში, კორელაცია ფარისებრი ჯირკვლის სხვადასხვა პათოლოგიასა და HCO_3^- -ATP აზის აქტივობას შორის. ნანახია, რომ პათოლოგიების შემთხვევაში ჯირკვლის სუბუჯრედულ სტრუქტურებში ხდება HCO_3^- -ATP-აზური აქტივობის ცვლილება. ფერმენტის კინეტიკური პარამეტრის V_{max} , K_m შესწავლით დადგენილია, რომ სხვადასხვა

პათოლოგიისას აღინიშნება როგორც ფერმენტის აქტივობის, ასევე HCO_3 -იონისადმი მისი თვისების შეცვლაც, რაც სავარაუდოდ. განპირობებული უნდა იყოს ჯირკვლის ქსოვილში მიმდინარე პათოლოგიური ცვლილებით [43; 44].

შესწავლილია გალაქტოზო და ინოზიტოსპეციფიური ლექტინების გავლენა HCO_3 -ATP-აზური აქტივობაზე ქათმის ტვინის გლიის უჯრედებზე. აღმოჩნდა, რომ HCO_3 – ATP-აზური აქტივობა დამოკიდებულია ლექტინების კონცენტრაციის ცვლილებაზე [45].

თავი II. კვლევის ობიექტები და მეთოდები

II.1 კვლევის ობიექტი

თეთრ, მამრ ვირთაგვებს (250-300გ) ვამყოფებდით ოთახში, სადაც კონტროლდებოდა ჰაერის ტემპერატურა, საკვებსა და წყალს ცხოველები იღებდნენ ნებაყოფლობით. ვირთაგვები დაყოფილი იყო 2ჯგუფად: კონტროლი (ჯგუფი 1), ჰიპოთიროიდული ჯგუფი (0,02 % მეთიმაზოლი სასმელ წყალში 28 დღის განმავლობაში)(ჯგუფი 2).

ცხოველების დეკაპიტაციის შემდგომ ვიღებდით ფარისებრ ჯირკვალს, ვრეცხავდით 0.9%-იან NaCl-ის ხსნარში, ვასუფთავებდით კაპილარებისაგან და ვაჰომოგენიზირებდით საქაროზას 0.32%-იან ხსნარში. მიღებულ ჰომოგენატში ისაზღვრებოდა HCO_3^- -ATPაზური აქტივობა.

II.2. HCO_3^- -ATPაზური აქტივობის განსაზღვრა

HCO_3^- -ATPაზური აქტივობას ვსაზღვრავდით როგორც სხვაობას აქტიურ (HCO_3^- -იონის თანაობისას) და პასიურ (იონის გარეშე, რომლის მაგივრადაც შეტანილი იყო იმავე კონცენტრაციის NaCl) სხვაობას შორის. სარეაქციო არე შეიცავდა: 60 mM NaHCO_3 , MgCl_2 (2.5 mM)ATP (2.5mM), საკვლევ ფრაქციას) (500 μg) და ბუფერულ ხსნარს (Tris-HCl, 40 mM, pH-7.5). ფერმენტის აქტივობას ვსაზღვრავდით ATP-ის ჰიდროლიზის შედეგად გამოთავისუფლებული ფოსფორის მიედვით ($\mu\text{mole Pi/mg}$ ცილა/წთ). მიღებული შედეგები მუშავდებოდა სტატისტიკურად სტუდენტის მეთოდის მიხედვით. ფერმენტის კინეტიკური პარამეტრების დადგენისას გამოყენებული იქნა რეგრესიული ანალიზი.

II.3. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით

ფოლინ-ჩოკალტეუს ფენოლურ რეაქტივთან ცილის მოლეკულის შემადგენლობაში არსებული ამინომჟავები (ცისტეინი, თიროზინი) წარმოქმნიან ლურჯი შეფერილობის კომპლექსს. ეს უკანასკნელი ფოლინის აღდგენის შედეგად წარმოიქმნება [46].

ექსპერიმენტის პირველ ეტაპზე 0.4 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით 2 მლ C რეაქტივს, რომელიც თავის მხრივ მზადდება A (NaHCO₃-ის (უწყლო) 2%-იანი ხსნარი დამზადებული 1 N NaOH-ზე) და B (0.5%-იანი CuSO₄ x 5H₂O დამზადებული 1 %-იან ნატრიუმის ციტრატზე) რეაქტივების ურთიერთშერევით (50:1). ვურევდით და ვაყოვნებდით 10 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე.

შემდგომ ეტაპზე ნარევს ვუმატებდით 200 μ ლ ფოლინის რეაქტივს, ვურევდით და ვაყოვნებდით 30 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე.

მიღებულ შეფერილობას ვზომავდით სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=750$ ნმ) და ვითვლიდით ცილის კონცენტრაციას შემდეგი ფორმულით:

$$C = K \times E_{\lambda} \times d \quad (\text{mg/ml})$$

სადაც:

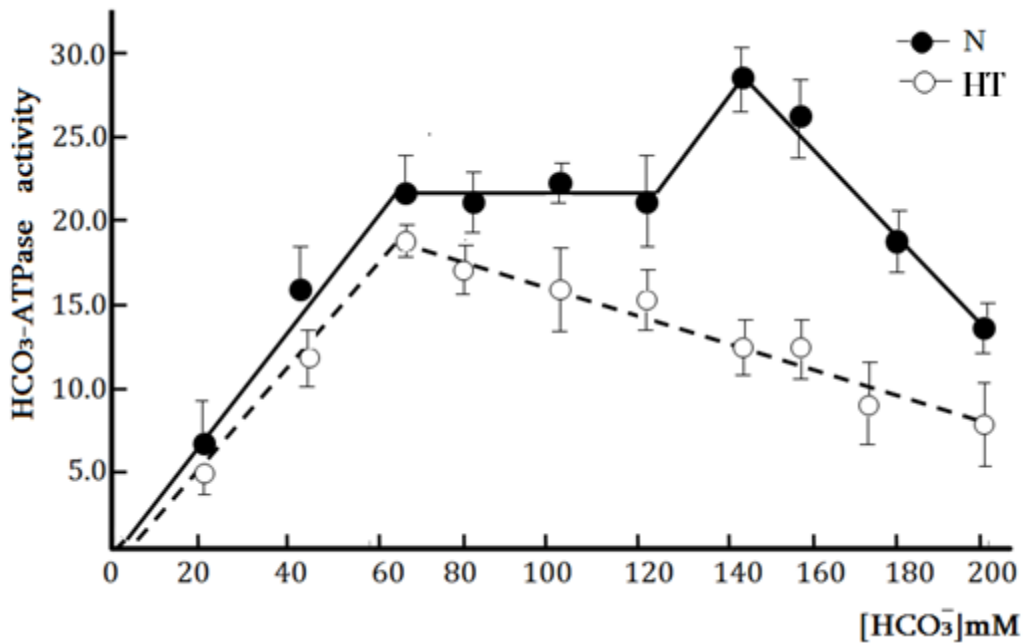
C - ცილის კონცენტრაცია,

E_λ - მიღებული შუქმთანთქმების საშუალო,

K - მუდმივა.

თავი III. მიღებული შედეგები

ცდების საწყის სტადიაზე შესწავლილი იქნა სარეაქციო არეში HCO_3^- -იონის რაოდენობრივი ცვლილების შედეგად ჯანმრთელი (NN) და ჰიპოთირეოზით (HT) დაავადებული თიროიდული ჯირკვლის უჯრედების პლაზმური მემბრანის HCO_3^- -ატფაზური აქტივობა. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურათზე 1.



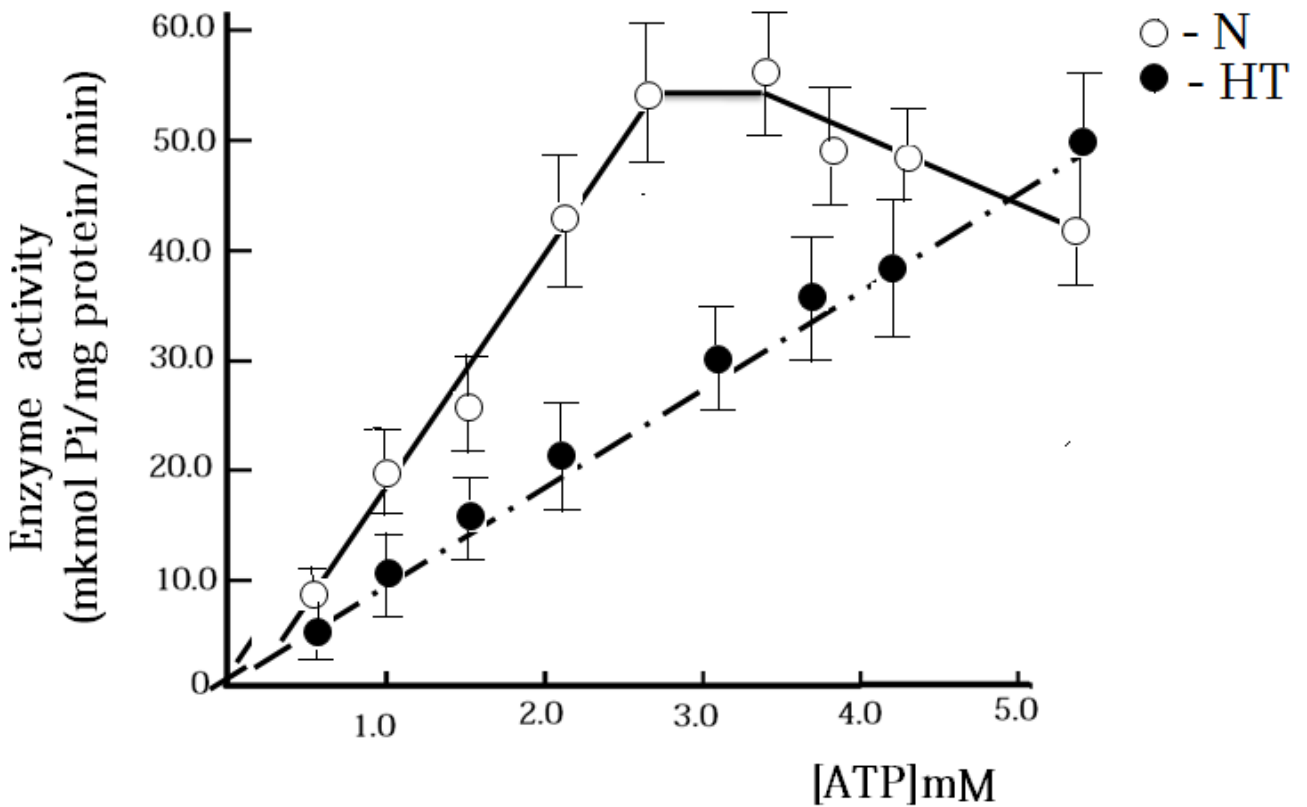
სურათი 1. თიროიდული ჯირკვლის უჯრედების პლაზმური მემბრანის HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობის დამოკიდებულება ბიკარბონატის იონის (HCO_3^-) ცვლადი კონცენტრაციისას

აბსცისათა ღერძზე - HCO_3^- -ის კონცენტრაცია (mM) სარეაქციო არეში
 ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა გამოსახული $\mu\text{mol Pi/mg protein/min}$ -ში
 n=10

როგორც სურათიდან ჩანს, ჯანმრთელი ჯირკვლის პლაზმური მემბრანის HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობა მაქსიმალურ სიდიდეს აღწევს ბიკარბონატის იონის 60mM-ის პირობებში, რაც რჩება მუდმივი 60-120 mM-ის ფარგალში, 120- 140 mM-ის პირობებში აღინიშნება ფერმენტული აქტივობის მატება და მხოლოდ ამის შემდგომ ფერმენტი იწყებს აქტივობის სარწმუნო შემცირებას. ასეთი ტიპის

კანონზომიერება არ არის დამახასიათებელი HT -ს დიაგნოზის მქონე ჯირკვლის უჯრედების HCO₃-ATPase-სათვის. ამ შემთხვევაში ფერმენტის აქტივობა მაქსიმალურ სიდიდეს აღწევს მხოლოდ HCO₃-იონის 60mM-ის კონცენტრაციის პირობებში, რის შემდგომაც ბიკარბონატის იონის რაოდენობრივი მატების პარალელურად, აღინიშნება მისი აქტივობის დაქვეითება.

სურათზე 2 წარმოდგენილი მონაცემები აჩვენებენ ჯანმრთელი და ასევე HT-ს პირობებშითიროიდული ჯირკვლის პლაზმური მემბრანის HCO₃-ATP-აზას აქტივობის ცვლილებას სარეაქციო არეში ATP-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის პირობებში.

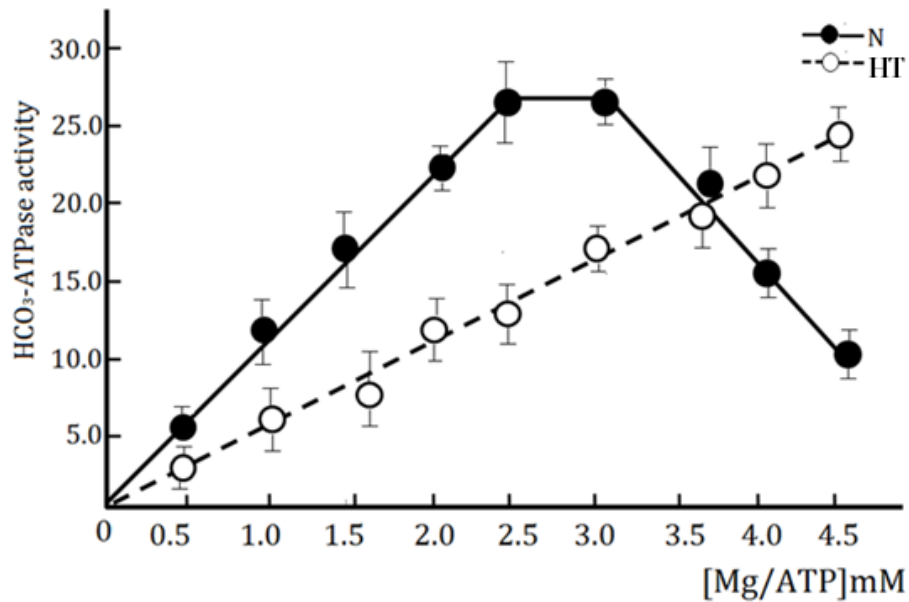


სურათი 2.თიროიდული ჯირკვლის HCO₃-ATPase-ს აქტივობის დამოკიდებულება სარეაქციო არეში ATP -ის ცვლადი კონცენტრაციის პირობებში

აბსცისათა ღერძზე - ATP-ის კონცენტრაცია (mM) სარეაქციო არეში
 ორდინატა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა (μmol Pi/mg protein/min)
 n=10

როგორც სურათი 2-დან ჩანს, ჯანმრთელი ცხოველის თიროიდული ჯირკვლის პლაზმურ მემბრანაში გამოვლენილი $\text{HCO}_3\text{-ATP}$ -აზას მაქსიმალური აქტივობა შეინიშნება სარეაქციო არეში ATP -ის $2.5\text{-}3.0\text{mM}$ -ის პირობებში, რაც განსხვავდება ჰიპოთირეოზული მდგომარეობაში გამოვლენილი ფერმენტული აქტივობისაგან. ამ უკანასკნელში მაქსიმალური აქტივობა შეინიშნება არეში 5 mM ATP -ის არსებობისას.

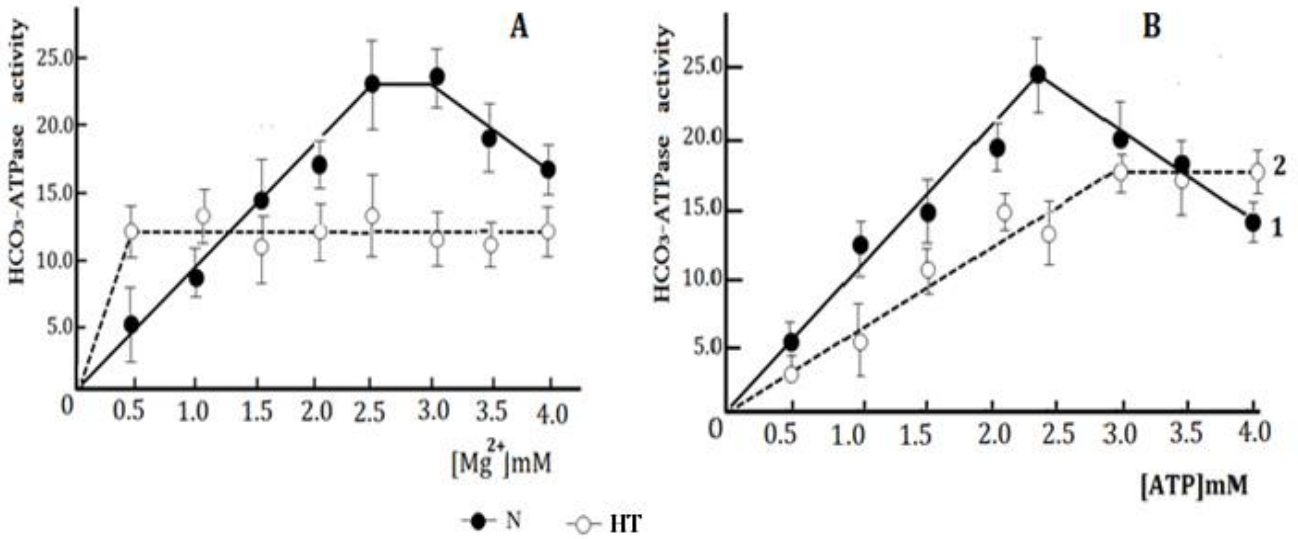
იმის გათვალისწინებით, რომ ზოგადად ATP -აზების ჭეშმარიტ სუბსტრატს წარმოადგენს Mg/ATP -ის კომპლექსი, შემდგომ ცდაში შესწავლილი იქნა აქტივობის ცვლილება Mg/ATP -ის ცვლადი კონცენტრაციის პირობებში. აღმოჩნდა, რომ N-ის შემთხვევაში ფერმენტის მაქსიმალური აქტივობა, ATP -ის ანალოგიურად აღინიშნება Mg/ATP -ის $2.5\text{-}3.0\text{ mM}$ -ის შემთხვევაში, რის მცირდება. განსხვავებული შედეგი დაფიქსირდა HT-ისას, კერძოდ ფერმენტის აქტივობა Mg/ATP -ის კონცენტრაციის ზრდის პარალელურად სწორხაზოვნად მატულობს (სურ.3).



სურათი 3. თიროიდული ჯირკვლის $\text{HCO}_3\text{-ATPase}$ -ს აქტივობის დამოკიდებულება Mg/ATP -ის ცვლადი კონცენტრაციის პირობებში

აბსცისათა ღერძზე - Mg/ATP -ის კონცენტრაცია (mM) სარეაქციო არეში
ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა ($\mu\text{mol Pi/mg protein/min}$)

იმის დასადგენად, თუ აღნიშნული კომპლექსიდან რომელი კომპონენტის ცვლილება განაპირობებს მეტი ხარისხით ფერმენტული აქტივობას, შემდგომ ექსპერიმენტში შესწავლილი იქნა აქტივობის ცვლილება ორ სიტუაციაში. პირველში შეისწავლებოდა აქტივობა ცვლადი Mg-ისა და ფიქსირებული ATP-ის კონცენტრაციის პირობებში, ხოლო მეორე სიტუაცია ეხებოდა ფიქსირებულ Mg-ისა და ცვლადი კონცენტრაციის ATP -ს. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 3, საიდანაც ჩანს, რომ ნორმაში Mg^{2+} -ის იონის ცვლადი კონცენტრაციის პირობებში ATP-ის (2.5mM) ჰიდროლიზის სიჩარე იზრდება სარეაქციო არეში Mg-ის კონცენტრაციის(0.5-2.5 mM-ის ფარგარლში) გაზრდის პარალელურად, ხოლო ამ იონის 3 mM -დან შემდგომი მატების პირობებში ადგილი აქვს ფერმენტული რეაქციის სიჩქარის ინჰიბირებას (სურ. 4 A). განსხვავებული შედეგია HT-ის შემთხვევაში. კერძოდ, სარეაქციო არეში Mg-ის რაოდენობის მატებამ არ გამოიწვია აქტივობის სარწმუნო ზრდა და ეს სიდიდე პრაქტიკულად დარჩა უცვლელი, რაც მინიშნებს, რომ ამ შემთხვევაში რეაქციის მიმდინარეობა არ არის დამოკიდებული ამ იონის არსებობაზე.



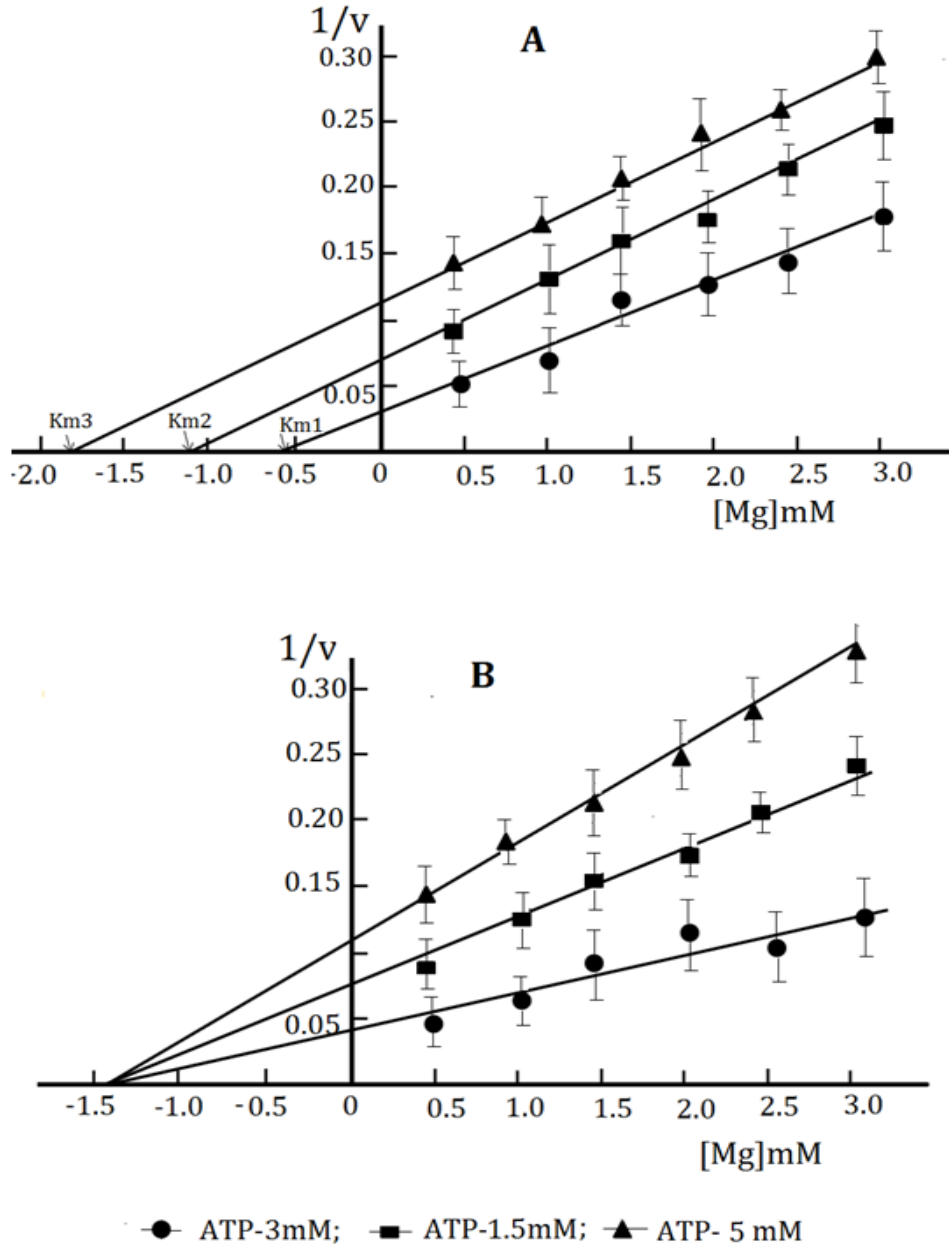
სურათი 4. თიროიდული ჯირკვლის HCO₃-ATPase-ს აქტივობის დამოკიდებულება Mg²⁺-ისა (A) და ATP-ის (B) კონცენტრაციებზე დამოკიდებულებით

1 - N; 2 - HT

ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა, გამოსახული $\mu\text{mol Pi/mg /min}$ -ში

სურათზე 4B მოცემულია მეორე სიტუაციის შედეგები, კერძოდ ფერმენტული რეაქციის სიჩქარის დამოკიდებულება სარეაქციო არეში Mg^{2+} -ის ფიქსირებულ და ATP-ის ცვლად კონცენტრაციაზე. აღმოჩნდა, რომ ფერმენტის მაქსიმალური სიჩქარე აღინიშნება ATP-ის 2.5 mM-ის პირობებში, რის შემდგომაც რეაქციის სიჩქარე კლებულობს და გრაფიკი პრაქტიკულად ზარისებური ფორმისაა. ჰიპოთირეოზული მდგომარეობის შემთხვევაში ციტირებული ჯირკვლის პლაზმური მემბრანის HCO_3^- -ATPase-ს რეაქციის მაქსიმალური სიდიდე მიიღწევა ATP-ის ამავე კონცენტრაციისას, თუმცა მისი შემდგომი მატება პრაქტიკულად არ ცვლის რეაქციის მიმდინარეობას.

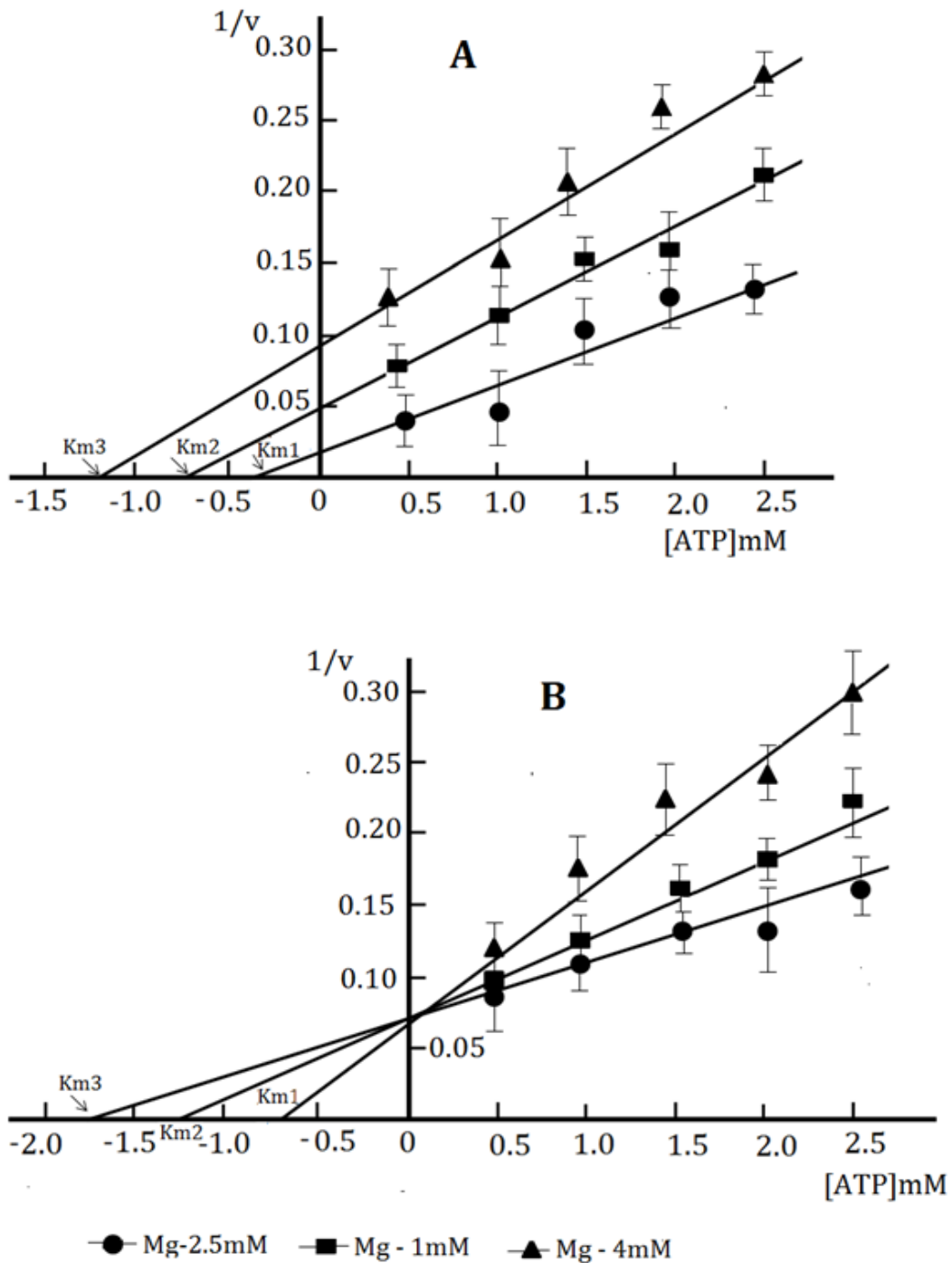
ამის შემდგომ შესწავლილი იქნა რეაქციების კინეტიკური პარამეტრები, კერძოდ რეაქციის მაქსიმალური სიჩქარე (V_{max}) და სუბსტრატის თვისობა (K_m) ფერმენტისადმი როგორც ნორმაში, ასევე ჰიპოთირეოზული მდგომარეობის შემთხვევაში. ამისათვის თავდაპირველად განისაზღვრა ფერმენტის V_{max} და K_m -ს სიდიდეები Mg^{2+} -იონის ცვლადი და ATP-ის ფიქსირებული კონცენტრაციის პირობებში. როგორც სურათი 5A-დან ჩანს, ნორმაში ATP-ის ფიქსირებული კონცენტრაციებისას (1.5mM, 3mM, 4mM) ადგილი აქვს V_{max} -ის სარწმუნო ცვლილებას. ასევე აღინიშნება ფერმენტის თვისობის შეცვლა Mg^{2+} -იონის მიმართაც [$K_{m1}(-0.5) > K_{m2}(-0.8) > K_{m3}(-1.6)$].



სურათი 5. თიროიდული ჯირკვლის HCO_3^- -ATPase-ური რეაქციის V_{\max} -ისა და K_m -ის ცვლილება Mg-ის იონის ცვლადი კონცენტრაციის პირობებში ნორმასა (A) და 3-ამინოთიროდიზმის (B) პირობებში

აბსცისათა ღერძზე - სარეაქციო არეში Mg-ის იონის კონცენტრაცია (mM)
 ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა ($1/V$)

განსხვავებული შედეგებია მიღებული ჰიპოთირეოზული მდგომარეობის პირობებში (სურ.4B). სურათიდან ჩანს, რომ წინა მონაცემების ანალოგიურად, ატფ-ის ფიქსირებული (1.5mM, 3mM, 4mM) კონცენტრაციისას იცვლება რეაქციის V_{max} , თუმცა არადინიშნება ფერმენტის თვისობის შეცვლა Mg^{2+} -ის იონის მიმართ ($K_{m1} = K_{m2} = K_{m3} = -1.35$), რაც მიანიშნებს რეაქციის მიმდინარეობას Mg^{2+} -ისაგან დამოუკიდებლად.

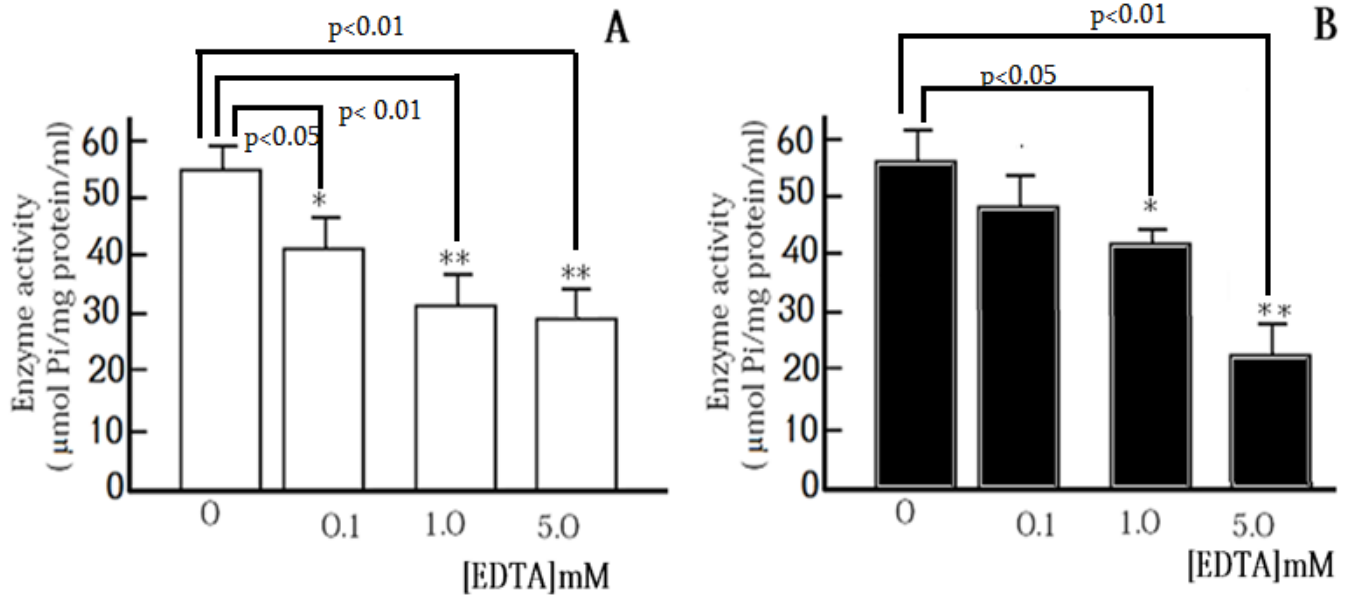


სურათი 6. თიროიდული ჯირკვლის HCO_3^- -ATPase-ური რეაქციის V_{\max} -ისა (AA) და K_m -ის (B) ცვლილება ATP-ის იონის ცვლადი კონცენტრაციის პირობებში აბსცისათა ღერძზე - სარეაქციო არეში ATP-ის იონის კონცენტრაცია (mM) ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა ($1/V$)

სურათზე 6A წარმოდგენილი მონაცემები მიუთითებს, რომ იმ შემთხვევაში, როცა ექსპერიმენტული ცხოველის სისხლში ნორმაშია თიროიდული ჰორმონების შემცველობა, ჯირკვლის უჯრედების პლაზმური მემბრანის HCO₃-ATP-ზას აქტივობა ატფ-ის ცვლადი კონცენტრაციის პირობებში დამოკიდებულია სარეაქციო არეში მაგნიუმის იონის რაოდენობრივ შემცველობაზე. ამის მაჩვენებელია რეაქციის მიმდინარეობის განსხვავებული მაქსიმალური სიჩქარე (V_{max}) Mg-ის იონის სამი ფიქსირებული კონცენტრაციის პირობებში (Mg=1mM, 2.5mM, 4mM) და ასევე ფერმენტის განსხვავებული თვისობა ATP -ის მიმართ [K_{m1}(-0.22) > K_{m2}(-0.75) > K_{m3}(-0.5)]. მონაცემები იცვლება HT-ის შემთხვევაში (სურ.6B). კერძოდ, რეაქციის სიჩქარის დამოკიდებულება ატფ-ის ცვლადი კონცენტრაციის პირობებში არ არის დამოკიდებული სარეაქციო არეში Mg-ის იონის არსებობაზე (1/v₁=1/v₂=1/v₃).

ამ მოსაზრების დასამტკიცებლად ჩატარებული იქნა ექსპერიმენტი, სადაც შეისწავლებოდა HCO₃-ATP-ზას აქტივობის ცვლილება ორვალენტანი იონების ხელატორების, კერძოდ ADTA -ს (ეთილენდიამინტეტრა-მმარმჟავა) და EGTA-ს ზემოქმედებით.

სურათზე 7 მოცემულია ფერმენტული აქტივობის ცვლილება ADTA -ს სხვადასხვა კონცენტრაციის პირობებში, რომელიც წარმოადგენს ზოგადად ორვალენტანი კათიონების (მაგალითად, Ca²⁺, Mg²⁺) ხელატორს.

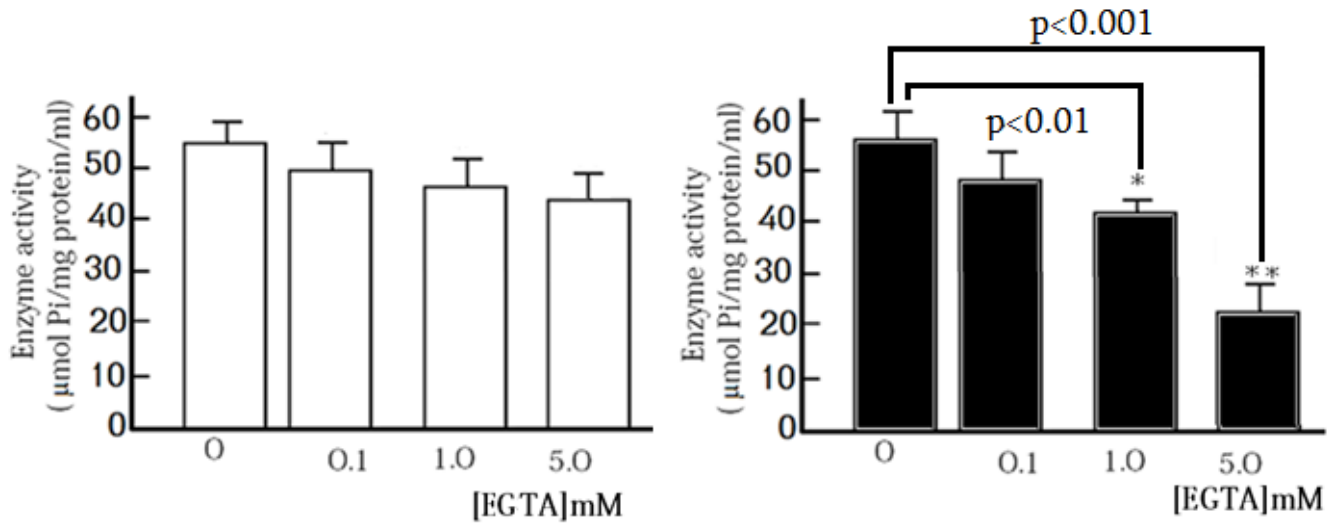


სურათი 7. თიროიდული ჯირკვლის HCO₃-ATPase-ს აქტივობის დამოკიდებულება EDTA -ს შემცველობაზე N-სა (A) და HT-ის (B) პირობებში

ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა (V) გამოსახული $\mu\text{Pi}/\text{mg protein}/\text{min}$;
 აბსცისათა ღერძზე - ADTA- ს შემცველობა სარეაქციო არეში (mM)

n= 10

მიღებული შედეგებიდან იკვეთება, რომ N-ში გამოვლენილი ფერმენტული აქტივობა კლებულობს სარეაქციო არეში ADTA-ს შემცველობის ზრდის პარალელურად. ამის ანალოგიურად, ჰიპოთირეოზულ ჯირკვალში გვაქვს მსგავსი შედეგი. კერძოდ, ხელატორის შემცველობის გაზრდის ფონზე შეინიშნება ფერმენტული აქტივობის პროპორციული კლება. მიღებული მონაცემებისა და ასევე წინა ექსპერიმენტის გათვალისწინებით, რომ ჰიპოთირეოზულ ჯირკვალში გამოვლენილი HCO_3^- -ATPase-ური აქტივობა არ არის დამოკიდებული Mg-ის იონის შემცველობაზე სარეაქციოარეში, სავარაუდოა, რომ ეს ეფექტი გამოწვეული იყოს სარეაქციო არეში ისეთი იონის რაოდენობის შემცირებით, როგორცაა Ca^{2+} . ამ ვარაუდს ამყარებს ექსპერიმენტული მონაცემები, სადაც შეისწავლება EGTA-ს გავლენა ფერმენტული რეაქციის მიმდინარეობაზე, რომელიც როგორც ცნობილია წარმოადგენს Ca^{2+} -ის იონის სპეციფიკურ ხელატორს. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 8.



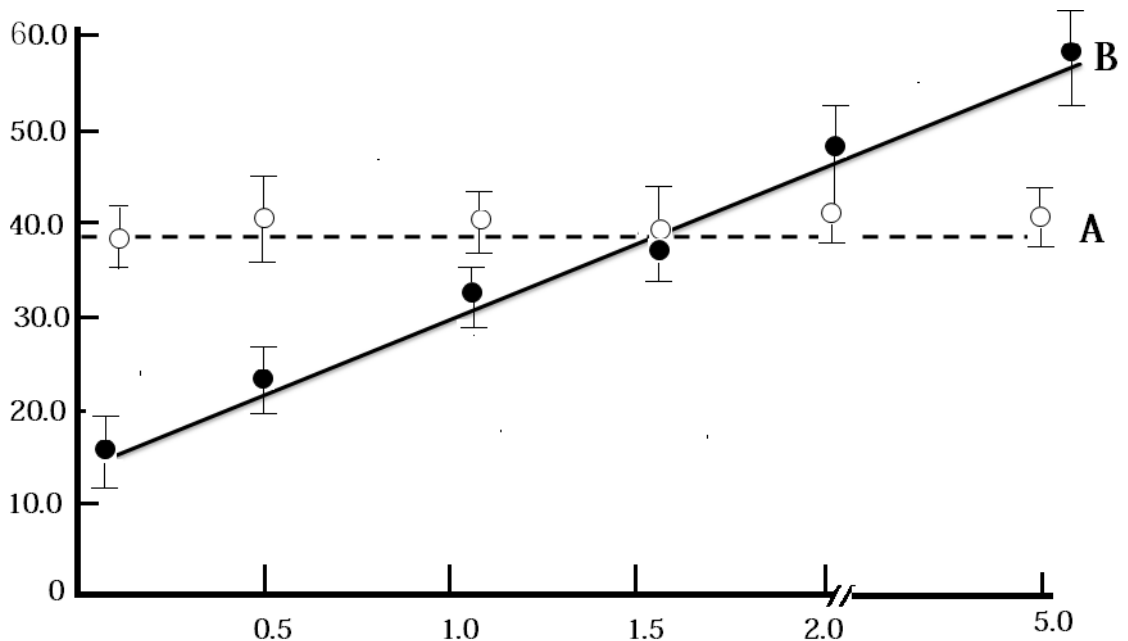
სურათი 8.თიროიდული ჯირკვლის HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობის დამოკიდებულება EGTA - ს შემცველობაზე N-სა (A) და HT-ის (B) პირობებში

ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა (V) გამოსახული $\mu\text{Pi}/\text{mg protein}/\text{min}$;
 აბსცისათა ღერძზე - EGTA - ს შემცველობა სარეაქციო არეში (mM)

n

მიღებული მონაცემები აჩვენებენ, რომ ნორმაში თიროიდულ ჯირკვალში არსებული HCO_3^- -ATPase-ური აქტივობა არ არის დამოკიდებული სარეაქციო არეში EGTA-ს არსებობაზე და შესაბამისად მისი აქტივობა არ იცვლება ამავე არეში Ca^{2+} -ის იონის ცვლილების პარალელურად. განსხვავებული მონაცემებია მიღებული ჰიპოთიროიდული მდგომარეობის შემთხვევაში, კერძოდ EGTA-ს რაოდენობრივი ზრდის პარალელურად აღინიშნება ფერმენტული აქტივობის დაქვეითება, რაც მიანიშნებს, რომ სარეაქციო არეში კალციუმის რაოდენობის შეზღუდვის პარალელურად, ადგილი აქვს ფერმენტული რეაქციის ინჰიბირებას.

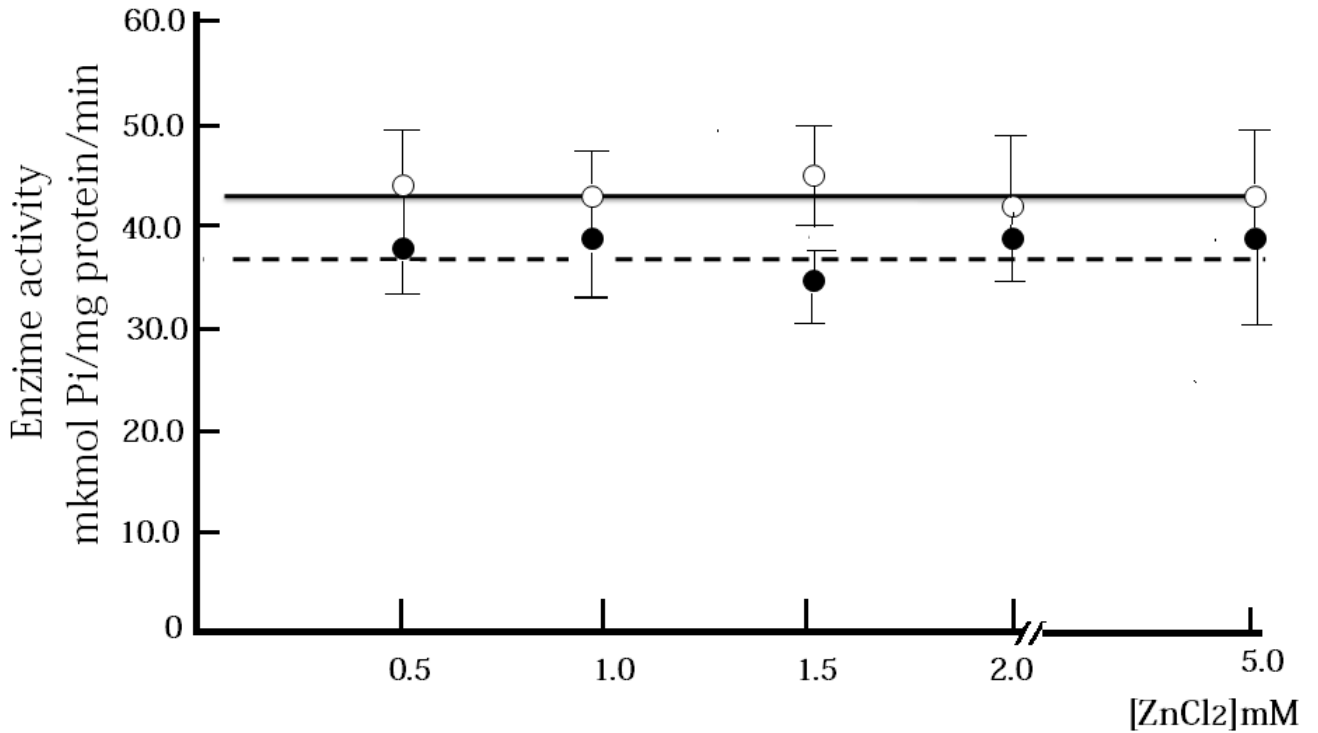
ამ მოსაზრებას ამყარებს მონაცემები, სადაც ნაჩვენებია კალციუმის იონის რაოდენობის ცვლილების პირობებში ფერმენტული აქტივობის ცვლილება როგორც ნორმალურ, ასევე ჰიპოთიროიდული ჯირკვლის მაგალითზე (სურ. 9). სურათზე წარმოდგენილი მონაცემები აჩვენებენ, რომ ჯანმრთელი ჯირკვლის შემთხვევაში ფერმენტული რეაქციის მიმდინარეობა კალციუმის იონის რაოდენობრივი შემცველობის პარალელურად არ იცვლება. განსხვავებული მონაცემებია ჰიპოთიროიდული მდგომარეობის შემთხვევაში, კერძოდ იონის რაოდენობის გაზრდა (0.1-5mM) სარწმუნოდ ზრდის ფერმენტის აქტივობას და ეს იონი ჰიპოთიროიდული ფერმენტისათვის წარმოადგენს მის აქტივატორს.



სურათი 9. Ca^{2+} -ის გავლენა თიროიდული ჯირკვლის HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობაზე ნორმასა (A) და ჰიპოთირეოზის (B) პირობებში

ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა (V) გამოსახული $\mu\text{Pi}/\text{mg protein}/\text{min}$;
 აბსცისათა ღერძზე - Ca- ის შემცველობა სარეაქციო არეში (mM)

ეს მოსაზრება ასევე დადასტურებული იქნა ექსპერიმენტში, სადაც შეისწავლებოდა ასევე ორვალენტური კათიონის კერძოდ ZnCl_2 -ის გავლენა ფერმენტულ აქტივობაზე როგორც ნორმალური, ასევე ჰიპოთირეოზული მდგომარეობის პირობებში (სურ.10).



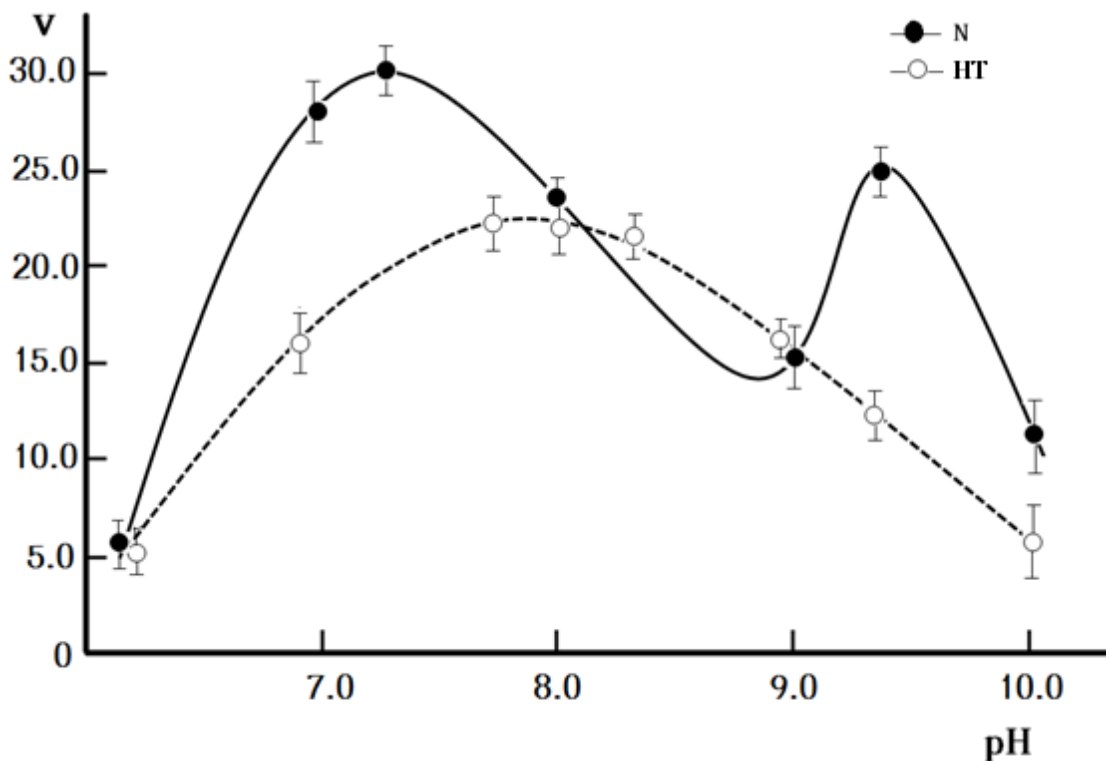
სურათი 10. ZnCl_2 - ის გავლენა თიროიდული ჯირკვლის HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობაზე ნორმასა (A) და ჰიპოთირეოზის (B) პირობებში

ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა (V) გამოსახული $\text{mkmol Pi}/\text{mg protein}/\text{min}$;
 აბსცისათა ღერძზე - ZnCl_2 - ის შემცველობა სარეაქციო არეში (mM); n= 10

როგორც მიღებული მონაცემები აჩვენებენ, თუთიის ორვალენტური კათიონის სხვადასხვა კონცენტრაციის პირობებში ადგილი არ აქვს HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობის ცვლილებას, რაც

ადასტურებს ვარაუდს, რომ EDTA -ს მაინჰიბირებელი ეფექტის მიზეზს წარმოადგენს აღნიშნული ხელატორით Ca-ის იონების შებოჭვა, რაც თავის მხრივ, ჰიპოთიროიდულ ჯირკვალში HCO_3^- -ATPase-ს ინჰიბირების მიზეზი ხდება. ამის საპირისპიროდ, აღნიშნული კატიონის მოცილება საინკუბაციო არედან არ ცვლის ფერმენტის აქტივობას არაჰიპოთიროიდულ ჯირკვალში და ეს სიდიდე მუდმივი რჩება.

იმის გათვალისწინებით, რომ ცნობილია HCO_3^- -ATPase-ს მონაწილეობა უჯრედშიდა pH-ის რეგულირების პროცესში, შემდგომში შესწავლილი იქნა ფერმენტის აქტივობის მაჩვენებელი სარეაქციო არეს სხვადასხვა pH -ის დროს (სურ.11). ამისათვის ფერმენტული რეაქციის მიმდინარეობას შევისწავლიდით განსხვავებული pH -ის სარეაქციო არეში. კერძოდ, შესწავლილი იქნა რეაქციის მიმდინარეობა pH 5-10-ის ფარგალში. როგორც მიღებული მონაცემებიდან ჩანს, ამ შემთხვევშიც გამოჩნდა განსხვავება N-სა და HT მდგომარეობას შორის. პირველ შემთხვევაში აღინიშნა ფერმენტის აქტივობის ორი მაქსიმუმი –pH 7.5და pH 9.3. რაც შეეხება ჰიპოთიროზულ მდგომარეობას, ამ პირობებშიpH-სიდიდე, რომლის დროსაც ვლინდება მაქსიმალური აქტივობა, მერყეობს 7.8 -8.3-ის ფარგალში. ორივე შემთხვევაში pH -სიდიდის შემდგომი ზრდა იწვევს ფერმენტული რეაქციის სიჩქარის დაქვეითებას.



სურათი 11. თიროიდული ჯირკვლის HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობის დამოკიდებულება სარეაქციო არეს pH-სიდიდეზე

ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტის აქტივობა (V) გამოსახული $\mu\text{M Pi}/\text{mg protein}/\text{min}$;
 აბსცისათა ღერძზე - სარეაქციო არეს pH

○ - ფერმენტის აქტივობის ცვლილება ნორმაში; ● - ფერმენტის აქტივობის ცვლილება ჰიპოთირეოზის შემთხვევაში

ამრიგად, მიღებული შედეგები მიუთითებს, რომ თიროიდული ჯირკვლის პლაზმური მემბრანის HCO_3^- -ATPase ავლენს განსხვავებულ თვისებებს იმის მიხედვით, თუ როგორია ჯირკვლის ფუნქციური მდგომარეობა. ამის გათვალისწინებით, საინტერესოს წარმოადგენდა დაგვედგინა, თუ რომელი ტიპის ATP-აზასთან გვაქვს საქმე. ამისათვის გამოყენებული იქნა ARL67156 (6-N,N-Diethyl-D-β-γ-dibromomethylene adenosine triphosphate), რომელიც როგორც ცნობილია წარმოადგენს ე.წ. ecto-ATP-აზების სპეციფიკურ ინჰიბიტორს(ცხრ.1).

ცხრილი 1.

ARL67156-ის გავლენა საკონტროლო (N) და ჰიპოთირეოზული (HT) ცხოველების თიროიდული ჯირკვლის HCO_3^- -იონით აქტივირებულ ATP-აზურ აქტივობაზე (n=6, *p<0.05)

თიროიდული ჯირკვალი	ARL 67156 (μmol)		%
	0	40	
საკონტროლო ვირთაგვები (N)	22.45 ± 1.45	19.93 ± 2.24*	12.3
ჰიპოთირეოზული მდგომარეობის ვირთაგვები (HT)	16.35 ± 2.36	6.06 ± 1.39*	63.0

ცხრილი 1-დან ჩანს, რომ ინჰიბიტორის ეფექტი ვლინდება როგორც N-ჯგუფის, ასევე HT-ჯგუფის ცხოველებში, თუმცა საკონტროლო ჯგუფში ინჰიბიტორის ზემოქმედების შედეგად აღინიშნება ფერმენტული აქტივობის მხოლოდ 12%-იანი შემცირება, იმ დროს, როცა ეს მაჩვენებელი გაცილებით მაღალი ხარისხითაა წარმოდგენილი HT-ჯგუფში. კერძოდ, ARL 67156-ის თანაობისას ფერმენტული რეაქციის მიმდინარეობის ინტენსივობა დაახლოებით 63%-ით ქვეითდება, რაც მიანიშნებს, რომ HT-ჯგუფში, საკონტროლოსთან შედარებით ecto-ATP-აზების აქტივობა გაცილებით მაღალი ხარისხითაა წარმოდგენილი.

IV. მიღებული შედეგების განხილვა

ლიტერატურული მონაცემები მიუთითებენ, რომ ცხოველური ორგანიზმების სხვადასხვა ქსოვილსა და უჯრედებში ფუნქციონირებს ATP-ase-ების განსაკუთრებული ჯგუფი, რომლებიც განსხვავდება პლაზმური მემბრანის სატრანსპორტო P, F და V ტიპის სატრანსპორტო ATP-ase-ებისაგან როგორც ლოკალიზაციის, ასევე შესრულებული სამუშაოსა და ფუნქციონირების მიხედვით და მათ მიაკუთვნებენ E-ტიპის ATP-აზები-ის ჯგუფს და Ecto-ATP-აზები ეწოდებათ. ეს ფერმენტები წარმოადგენენ ტრანსმემბრანულ ცილებს და ფუნქციონირებენ პლაზმური მემბრანის გარეთა მხრიდან, ახდენენ ATP-ის ან ADP-ის ჰიდროლიზს მაღალი სიჩქარით და ინჰიბირდება სპეციფიკური ინჰიბიტორით - ARL67156-ით [47; 48]. მაგალითად, Ecto-ATP-აზები ნანახია T-ლიმფოციტების მემბრანაში და გამოთქმულია ვარაუდი მისი მონაწილეობის შესახებ ისეთ მნიშვნელოვან პროცესში, როგორიცაა ამ უჯრედებით ციტოკინების სეკრეცია [49]. ამავე დროს, არსებობს ვარაუდი ecto-ATP-აზების მონაწილეობის შესახებ ისეთ მნიშვნელოვან პროცესებში, როგორიცაა ნერვულ ქსოვილში სინაფსური გადაცემის რეგულირება, თირკმლის ფუნქციონირება, კუჭქვეშა ჯირკვალი და სხვ. . ამავე დროს, ნანახია ამ ტიპის ატფ-აზების აქტივობის ცვლილებები ისეთი პათოლოგიების დროს, როგორიცაა ეპილეფსია, სიმსივნური ზრდა და სხვ. Ecto-ATP-აზების გარდა, E-ტიპის ATP-აზები-ის ჯგუფს მიეკუთვნება ასევე ecto-აპირაზები (გარდაქმნიან ATP-ს და ADP-ს AMP-მდე), ecto-5'-ნუკლეოზიდაზები (გარდაქმნიან AMP-სადენოზინამდე). დადგენილია, რომ სტრუქტურულად E-ტიპის ATP-აზები მსგავსია, კერძოდ წარმოადგენილია 50-60KDa მოლეკულური მასის ცილით, რომელიც სხვადასხვა ტიპის უჯრედში სხვადასხვა ხარისხითაა გლიკოზილირებული და 2-3 მონომერისაგან აგებული ჰომოოლიგომერია. ამ ტიპის ATP-აზების კვლევის სიახლის გამო ჯერ კიდევ ბევრი კითხვის ნიშანი არსებობს მათი გავრცელებისა და სავარაუდო ფუნქციის შესახებ. გამოთქმულია ვარაუდი ecto-ATP-აზების მონაწილეობის შესახებ ისეთ მნიშვნელოვან პროცესებში, როგორიცაა სინაფსური გადაცემის რეგულირება, ლიმფოციტებისა და თირკმლის ეპითელიური უჯრედების ფუნქციონირება.

ლიტერატურული მონაცემებით დასტურდება, რომ ადამიანის თიროიდული ჯირკვლის ქსოვილში აღინიშნება $\text{HCO}_3\text{-ATPase}$ -ს არსებობა, რომელიც განსხვავებულ აქტივობას ავლენს ზოგიერთი პათოლოგიის, მაგალითად ფოლიკულური კარცინომის, ადენომისა და დიფუზურ-ტექსიკური ჩიყვის შემთხვევაში [43]. ცნობილია, რომ $\text{HCO}_3\text{-ATPase}$, რომელიც აქტივობის გამოვლენისათვის საჭიროებს Mg^{2+} -ის არსებობას, მონაწილეობას ღებულობს უჯრედში ფერმენტ

კარმონჰიდრაზას აქტივობით წარმოქმნილი ნახშირმჟავას (H_2CO_3) დისოციაციის შედეგად წარმოქმნილი HCO_3^- -იონის ტრანსპორტირებაში და ამით აქტიურადაა ჩართული უჯრედშიდა pH-ის რეგულირების პროცესში. თუმცა რა ფუნქციას ასრულებს ეს ფერმენტი პათოლოგიური მდგომარეობის შემთხვევაში და როგორ იცვლება მახასიათებლები, უცნობია.

ამის გათვალისწინებით, ჩვენი ნაშრომის მიზანს წარმოადგენდა, შეგვესწავლა ლაბორატორიული თეთრი ვირთაგვას თიროიდული ჯირკვლის პლაზმური მემბრანის Mg^{2+} -ით აქტივირებული, HCO_3^- -ით სტიმულირებული ATPase-ს აქტივობის ზოგიერთი მახასიათებელი როგორც ნორმაში, ასევე ჰიპოთირეოზის შემთხვევაში.

როგორც ცხრილი 1-დან ჩანს, RL67156-ის მოქმედებით, რომელიც წარმოადგენს ე.წ.ecto-ATP-აზების სპეციფიკურ ინჰიბიტორს, ადგილი აქვს თიროიდული ჯირკვლის პლაზმური მემბრანის HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობის შემცირებას როგორც საკონტროლო, ასევე ჰიპოთირეოიდული ჯგუფის ცხოველებში (ცხრ.1). აღსანიშნავია, რომ ჰიპოთირეოზის შემთხვევაში, საკონტროლო ქსოვილთან შედარებით, ინჰიბიტორის ეფექტი გაცილებით მაღალი ხარისხით იქნა გამოვლენილი (63% და 12.3% შესაბამისად), რაც გვაძლევს საფუძველს ვივარაუდოთ თიროიდულ ჯირკვალში როგორც P-ტიპის სატრანსპორტო ATPაზას, ასევე ecto-ATPაზას არსებობა, რომელიც ჰიპოთირეოზული პათოლოგიის პირობებში საკონტროლო სიდიდესთან შედარებით, გაცილებით მაღალი აქტივობით ხასიათდება.

ცნობილია, რომ ecto-ATPაზები, ჩვეულებრივი P - ტიპის ატფ-აზებისაგან განსხვავდებიან ექსტრაუჯრედული ნუკლეოტიდების და მათ შორისATP--ის ჰიდროლიზის შესაძლებლობით მათ აქტივატორს წარმოადგენს ორვალენტანი კათიონები ან ზოგიერთი ანიონი, მათ შორის HCO_3^- -იონიც. ამ ტიპის ATP-აზები არ ავლენენ მგრძნობელობას P, F და V ტიპისATP-აზების ინჰიბიტორების მიმართ და გააჩნიათ სპეციფიკური ინჰიბიტორი - ARL67156 (6-N,N-Diethyl-D-β-γ-dibromomethylene adenosine triphosphate) [50].

სურათზე 1 წარმოდგენილი მონაცემებიდან ჩანს, რომ საკონტროლო C-ჯგუფის ვირთაგვების თიროიდული ჯირკვლის უჯრედებში HCO_3^- -ATPase-ს დამოკიდებულების ხასიათი HCO_3^- -იონისადმი განსხვავდება HT-ჰიპოთირეოზული ჯგუფის ფერმენტების მაჩვენებლებისაგან. კერძოდ, პირველ შემთხვევაში ფერმენტის აქტივობის დამოკიდებულებას HCO_3^- -იონის კონცენტრაციაზე გააჩნია ზარისებური ფორმა აღმავალი და დაღმავალი ფაზებით, სადაც ფერმენტი მაქსიმალურ აქტივობას ავლენს სარეაქციო არეში HCO_3^- -იონის 140mM-ის შემთხვევაში და რაც ასევე ემთხვევა ლიტერატურულ მონაცემებს [48]. ცნობილია, რომ აქტივატორის

კონცენტრაციაზე ფერმენტის დამოკიდებულების ამ ტიპის გეომეტრიული ფორმა დამახასიათებელია ყველა P -ATP-აზებისათვის და არის მათთვის აუცილებელი, მაგრამ არასაკმარისია პირობა. განსხვავებული შედეგია HT-ჯგუფის შემთხვევაში, სადაც მაქსიმალური ფერმენტული აქტივობა ვლინდება ამ იონის მხოლოდ 60 mM M-ის დროს.

ამ მოსაზრებას ადასტურებს ასევე ფერმენტის აქტივობის დამოკიდებულების ხასიათი სუბსტრატისადმი. როგორც ცნობილია, სატრანსპორტო ატფ-აზების სუბსტრატს წარმოადგენს Mg/ATP. ამით ისინი განსხვავდებიან ecto-ATP-აზებისაგან, რომლის სუბსტრატი მხოლოდ თავისუფალი, უჯრედგარე ატფ-ია, რომელიც ენერგეტიკული მნიშვნელობის გარდა წარმოადგენს ასევე სასიგნალო მოლეკულასაც და ხასიათდება სხვადასხვა ბიოლოგიური ეფექტებით [50]. როგორც სურათი 2-დან ჩანს, C-ჯგუფში ფერმენტის აქტივობის დამოკიდებულება სუბსტრატისადმი (Mg/ATP) განსხვავდება ამავე მაჩვენებლისაგან ჰიპოთირეოზულ ჯირკვალში. კერძოდ, ჯანმრთელი ჯირკვლის შემთხვევაში ფერმენტის აქტივობის დამოკიდებულებას სუბსტრატისადმი გააცნია სატრანსპორტო ატფ-აზებისათვის დამახასიათებელი ფორმა აღმაალი და დაღმავალი ფაზებით იმ დროს, როცა HT-ჯგუფში ფერმენტის აქტივობა არ ამჟღავნებს ამ ტიპის დამოკიდებულებას, რაც ასევე დამახასიათებელ ნიშნას წარმოადგენს ecto-ATP-აზებისათვის [51].

სურათი 3-დან ჩანს, რომ HT-ის შემთხვევაში პლაზმური მემბრანის HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობა არ არის დამოკიდებული სარეაქციო არეში Mg^{2+} -ის იონის რაოდენობის ცვლილებაზე და დამოკიდებულია მხოლოდ სარეაქციო არეში ატფ-ის არსებობაზე. რაც შეეხება ფერმენტის აქტივობას Mg^{2+} -ის 0.5 mM M-ის კონცენტრაციის პირობებში, იგი სავარაუდოდ გამოწვეულია დამოუკიდებელი Mg-ATPase-აზას მოქმედებით. ამის საპირისპიროდ, C-ჯგუფში გამოვლენილი ფერმენტული აქტივობა აჩვენებს, რომ იგი დამოკიდებულია სარეაქციო არეში როგორც Mg^{2+} -ის იონის, ასევე ატფ-ის არსებობაზე.

ეს მოსაზრება დასტურდება ასევე ფერმენტის კინეტიკური პარამეტრების (V_{max} , K_m) შესწავლითაც. კერძოდ, სურათზე 4 წარმოდგენილი მონაცემებიდან ჩანს, რომ ჰიპოთირეოზის შემთხვევაში ფერმენტის V_{max} , სარეაქციო არეში ატფ-ის სამი ფიქსირებული კონცენტრაციის პირობებში (1.5mM, 2.5 mM და 5.0 mM) იცვლება ისე, რომ მუდმივი რჩება ფერმენტის თვისობა Mg^{2+} -ის იონისადმი ($K_{m1}=K_{m2}=K_{m3}$). ამის საპირისპიროდ, საკონტროლო C-ჯგუფის ცხოველებში ჩანს ფერმენტის თვისობის სარწმუნო ცვლილება Mg-იონისადმი ($K_{m1}>K_{m2}>K_{m3}$) (სურ. 4A).

ანალოგიური მონაცემებია მიღებული ცდებში, სადაც შეისწავლებოდა ფერმენტის V_{max} -ისა და K_m -ის დამოკიდებულება სარეაქციო არეში ატფ-ის ცვლადი და Mg-ის იონის ფიქსირებული

კონცენტრაციის პირობებში. მოღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 5. სურათზე წარმოდგენილი მონაცემებიდან ჩანს, რომ C-ჯგუფის შემთხვევაში აღინიშნება ფერმენტული რეაქციის V_{max} -ის პირდაპირპროპორციული დამოკიდებულება სარეაქციო არეში ატფ-ის კონცენტრაციაზე Mg-ის იონის ფიქსირებული კონცენტრაციების (1.0 mM, 2.5 mM და 4.0 mM) შემთხვევაში (სურ.5A). საკონტროლო ჯგუფისაგან განსხვავებით, HT-ის შემთხვევაში ფერმენტის V_{max} -სიდიდე Mg-იონის სამივე კონცენტრაციის პირობებში არ იცვლება და რჩება მუდმივი, თუმცა ადგილი აქვს ფერმენტის K_m -ის ცვლილებას მხოლოდ ატფ-ის მიმართ ($K_{m1} > K_{m2} > K_{m3}$) (სურ.5B).

ცნობილია, რომ Mg-დამოკიდებული HCO_3^- -ATPase-ური აქტივობის გარდა ზოგიერთ ქსოვილში აღმოჩენილია ასევე Mg-არადამოკიდებული HCO_3^- -ATPase-ური აქტივობაც [49]. ამდენად, სავარაუდოა, რომ ჰიპოთირეოზის პირობებში თიროიდული ჯირკვლის უჯრედების პლაზმურ მემბრანაში მაღალი აქტივობით გამოირჩევა ecto ATPase, რომელიც ამავე დროს წარმოადგენს Mg-დამოკიდებელ ფერმენტს.

ამის დასამტკიცებლად ჩატარებული იქნა კვლევები, სადაც შეისწავლებოდა ფერმენტული აქტივობის ცვლილება სარეაქციო არეს სხვადასხვა pH-სიდიდის შემთხვევაში. ლიტერატურული მონაცემების გათვალისწინებით ცნობილია, რომ ecto-ATP-აზების pH-ოპტიმუმი მერყეობს 7.9-8.3-ის ფარგლებში [43]. ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემებიდან ჩანს, რომ HT-ის შემთხვევაში ფერმენტის მაქსიმალური აქტივობა მიიღწევა pH-H-7.5-8.3-ის ფარგალში (სურ.6). ლიტერატურულ მონაცემებს ემთხვევა ასევე საკონტროლო ჯგუფის თიროიდული ჯირკვლის უჯრედებში გამოვლენილი HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობის დამოკიდებულების ხასიათი pH-H-სიდიდისადმი. როგორც მიღებული მონაცემებიდან ჩანს, ამ პირობებში ფერმენტის აქტივობა შეინიშნება pH-H- 7.3-7.8 და 9.3-9.5 ფარგლებში. აღსანიშნავია, რომ ანალოგიურ ფარგალში ვლინდება HCO_3^- -ATPase-ს აქტივობა ისეთ ქსოვილებში, როგორცაა თავის ტვინი, კუჭქვეშა ჯირკვალი, ერთროციტების მემბრანა და სხვ. [44].

ამრიგად, როგორც ჩატარებული ექსპერიმენტები მიუთითებენ ვირთავას თიროიდული ჯირკვლის უჯრედების პლაზმურ მემბრანაში ფუნქციონირებს ორი ტიპის HCO_3^- -ATPase. ორივე შემთხვევაში ფერმენტების აქტივატორია HCO_3^- -იონი. თუმცა მათი აქტივობები ფუნქციური მდგომარეობიდან გამომდინარე განსხვავებულია. კერძოდ, ჯანმრთელ ჯირკვლში მაღალია HCO_3^- -ATP-აზა, რომელიც Mg-დამოკიდებული ფერმენტია და მიეკუთვნება P-ტიპის სატრანსპორტო ატფ-აზებს. აქვე გვხვდება Mg-დამოკიდებელი ecto- HCO_3^- -ATP-აზა, რომლის აქტივობა

ნორმაში Mg-დამოკიდებულ $\text{HCO}_3\text{-ATP}$ -აზასთან შედარებით დაბალია. თუმცა პათოლოგიური პროცესების განვითარების შემთხვევაში ადგილი აქვს მისი აქტივობის მნიშვნელოვან მატებას. ამდენად სავარაუდოა, რომ აღნიშნული პროცესი გარკვეულწილად ჩართული უნდა იყოს თიროიდული ჯირკვლის ატვის დამახასიათებელი პათოლოგიების, კონკრეტულად პიპოთირეოზული ტიპის პათოლოგიების ჩამოყალიბებისა და განვითარების პროცესში.

დასკვნა

1. თეთრი ვირთაგვას თიროიდულ ჯირკვალის პლაზმურ მემბრანაში ფუნქციონირებს 2 ტიპის HCO_3^- -ით სტიმულირებული , ATP-ით აქტივირებული ATPase;
2. ფერმენტები განსხვავებულ აქტივობას ავლენენ ჯირკვლის ფუნქციური მდგომარეობის მიხედვით. კერძოდ ნორმაში მაღალი აქტივობით ვლინდება P-ტიპის სატრანსპორტო HCO_3^- -ATPase, ხოლო ჰიპოთირეოზის დროს - E-ტიპის ectoHCO_3^- -ATPase.
3. დადგენილია, რომ თიროიდულ ჯირკვალში ნანახი ectoHCO_3^- -ATPase, განსხვავებით სატრანსპორტო Mg-დამოკიდებული HCO_3^- -ATPase-გან, წარმოადგენს Mg-დამოუკიდებელ ფერმენტს, რომლის აქტივობა არ საჭიროებს ამ იონის არსებობას.
4. ectoHCO_3^- -ATPase -ს კინეტიკური მახასიათებლების შესწავლამ აჩვენა, რომ იგი წარმოადგენს დამოუკიდებელ ფერმენტს, რომლის ფუნქციონირება არ არის დამოკიდებული სატრანსპორტო Mg, HCO_3^- -ATPase-ზე.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Sinnatamby C S. Thyroid gland. In: Last's Anatomy, Regional and applied 10th edition, London; Churchill Living stone, 1999, p. 330-332.
2. Hooper M. Thyroid. In: Iain MCA, Leadingham CM (eds). Jamieson and Kay's text book of surgical Physiology 4 th edition, London; Churchill Livingstone, 1988, p. 95-107
3. Florio T (2011) Adult pituitary stemcells: from pituitary plasticity to adenoma development. *Neuroendocrinology* 94:265–277
4. Williams GR, Neurodevelopmental and neurophysiological actions of thyroid hormone ; *J Neuroendocrinol.* 2008 Jun; 20(6):784-94
5. Cheng SY , Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions, *Endocrine society*; 2010 Apr; 31(2):139-70.
6. Freindorf M, Furlani TR, Kong J, Cody V, Davis FB, Davis PJ; Combined QM/MM study of thyroid and steroid hormone analogue interactions with $\alpha\beta 3$ integrin; *J Biomed Biotechnol.* 2012
7. Zimmermann MB. 2009; Iodine deficiency. *Endocr Rev.* 2009 Jun; 30(4):376-408.
8. Romão R, Rubio IG, Tomimori EK, Camargo RY, Knobel M, Medeiros-Neto G; High prevalence of side effects after recombinant human thyrotropin-stimulated radioiodine treatment with 30 mCi in patients with multinodular goiter and subclinical/clinical hyperthyroidism. *Thyroid.* 2009 Sep; 19(9):945-51.
9. Dentice M¹, Salvatore D. Deiodinases: the balance of thyroid hormone: local impact of thyroid hormone inactivation. *J Endocrinol.* 2011 Jun; 209(3):273-82
10. Wirth EK¹, Schweizer U², Köhrle J¹. Transport of thyroid hormone in brain. *Front Endocrinol* 2014 Jun 24; 5:98.
11. G.Cini , A.Carpi , J.Mechanick , L.Cini, M Camici, F.Galetta, R.Giardino, M.A.Russo, G.Iervasi; Thyroid hormones and the cardiovascular system: Pathophysiology and interventions, *Biomedicine&Pharmacotherapy* 2009, 742-753

12. Weitzel JM¹, Iwen KA. Coordination of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 Aug 6; 342(1-2):1-7.
13. Ando S¹, Sarlis NJ, Oldfield EH, Yen PM. Somatic mutation of TRbeta can cause a defect in negative regulation of TSH in a TSH-secreting pituitary tumor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Nov; 86(11):5572-6.
14. Weinberger C, Thompson CC, Ong ES, Lebo R, Gruol DJ, Evans RM. The c-erb-A gene encodes a thyroid hormone receptor; *Nature*. 1986 Dec 18-31; 324(6098):641-6.
15. Katz D¹, Lazar MA. Dominant negative activity of an endogenous thyroid hormone receptor variant (alpha 2) is due to competition for binding sites on target genes. *J Biol Chem*. 1993 Oct 5; 268(28):20904-10.
16. Brent GA. The molecular basis of thyroid hormone action. *N Engl J Med*. 1994 Sep 29; 331(13):847-53.
17. Aranda A¹, Alonso-Merino E, Zambrano A. Receptors of thyroid hormones. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2013 Sep; 11(1):2-13.
18. Hollenberg AN¹, Monden T, Flynn TR, Boers ME, Cohen O, Wondisford FE. The human thyrotropin-releasing hormone gene is regulated by thyroid hormone through two distinct classes of negative thyroid hormone response elements. *Mol Endocrinol*. 1995 May; 9(5):540-50.
19. Weitzel JM¹, Hamann S, Jauk M, Lacey M, Filbry A, Radtke C, Iwen KA, Kutz S, Harneit A, Lizardi PM, Seitz HJ. Hepatic gene expression patterns in thyroid hormone-treated hypothyroid rats. *J Mol Endocrinol*. 2003 Oct; 31(2):291-303.
20. Bassett JH¹, Harvey CB, Williams GR. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. *Mol Cell Endocrinol*. 2003 Dec 31; 213(1):1-11.
21. Saelim N¹, John LM, Wu J, Park JS, Bai Y, Camacho P, Lechleiter JD. Nontranscriptional modulation of intracellular Ca²⁺ signaling by ligand stimulated thyroid hormone receptor. *J Cell Biol*. 2004 Dec 6; 167(5):915-24. Epub 2004 Nov 29.
22. Axelband F¹, Dias J, Ferrão FM, Einicker-Lamas M. Nongenomic signaling pathways triggered by thyroid hormones and their metabolite 3-iodothyronamine on the cardiovascular system. *J Cell Physiol*. 2011 Jan; 226(1):21-8.\

23. Bergh JJ¹, Lin HY, Lansing L, Mohamed SN, Davis FB, Mousa S, Davis PJ. Integrin $\alpha V\beta 3$ contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis. *Endocrinology*. 2005 Jul; 146(7):2864-71.
24. Lei J¹, Mariash CN, Ingbar DH. 3, 3, 5-Triiodo-L-thyronine up-regulation of Na, K-ATPase activity and cell surface expression in alveolar epithelial cells is Src kinase- and phosphoinositide 3-kinase-dependent. *J Biol Chem*. 2004 Nov 12;279(46)
25. Del Viscovo A¹, Secondo A, Esposito A, Goglia F, Moreno M, Canzoniero LM. Intracellular and plasma membrane-initiated pathways involved in the $[Ca^{2+}]_i$ elevations induced by iodothyronines (T3 and T2) in pituitary GH3 cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012 Jun 1;302(11)
26. Бронштейн М. 1991
27. ბოჭიძის ტ. II ;, რ. სოლომონია
28. Briskin DP, Poole RJ. 1983. Plasma membrane ATPase of red beet forms a phosphorylated intermediate. *Plant Physiol*. 71:507-12
29. Kane P.M. "Vacuolar ATPase: structure, function, assembly and biosynthesis." *J. Bioenerg. Biomembr.*, 1999, 31, pp. 1-83.
30. Gruber G., Wiczorek H., Harvey W. R., Muller V. „Structure – function relationships of A-, F- and V-ATPases." *The Jour. of Exper. Biol.*, 2001, 204, pp. 2597-2605
31. Pisa K. Y., Weidner C., Maischak H., Kavermann H., Muller V. „The coupling ion in the methanoarchaeal ATP synthases: H⁺ vs. Na⁺ in the A (1) A(0) ATP synthase from the archaeon *Mathanosarcina mazei* GÖ1." *FEMS Microbiol. Lett.*, 2007, 277, pp. 56-63
32. Ferguson S. A., Kiens S., Cook G. M. Biochemical and Molecular Characterization of a Na⁺-Translocating F1F0-ATPase from the Thermoalkaliphilic Bacterium *paradoxum*." *J. Bacteriol.*, 2006, 188 (14), pp. 5045-5054
33. Knauf P.A., Proverbio F., Hoffman J.F. "Electrophoretic separation of different phosphoproteins associated with Ca-ATPase and Na, K-ATPase in human red cell ghosts". *J. Gen. Physiol.*, 1974, 63 (3), pp. 324-336.
34. Axelsen K.B., Palmgren M.G., "Evolution of substrate specificities in the P-type ATPase superfamily".
35. Leladze M., Nozadze E., Kometiani Z. "On the molecular mechanism of Na, K-ATPase isoforms". *J. of Biol. Physics and Chemistry*, 2001, 1, pp. 19-20.

36. Knowles A. F., Li C. "Molecular Cloning and Characterization of Expressed Human Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase 8 (E-NTPDase 8) and Its Soluble Extracellular Domain," *Biochemistry*, 2006, 45, 7323-7333., 41 Meyer-Fernandes J. R., Lanz-Mendoza H., Gondim K. C., Willott E., Wells M. A.
37. <http://www.answers.com/topic/bicarbonate#ixzz1leIMN9K0>
38. Simon B, Thomas L, "HCO₃ stimulated ATPase from mammalian pancreas. Properties and its arrangement with the enzyme activities". *Biochem. Biophys. Acta*, 1972, 288, 434-442
39. Kaysen G.A., Chou L.Y., Humphrey M.H. "Requirement of Zn to demonstrate HCO₃-ATPase activity of rat small intestinal brush border". *Cell. Biology*. 1979, V.82, 780-782
40. Slenney J. G., *Biochim. Biophys. Acta*, 1973, 311, 545 (Цит. По: Иващенко АБиохимия 40, 1975, 1091
41. Цакадзе Л. Г., Кошоридзе Н. И. "HCO₃-стимулируемая АТФ-аза головного мозга крыс". *Сообщ. Акад. Наук*. 1976
42. Иващенко А. И. Жубанова А. А. Балмуханов Б. С. "HCO₃-стимулируемая АТРаза гомогенатов крысы. *Биохимия* 40, 1975, 1091-1095
43. Koshoridze N., Kuchukashvili Z. "Human Thyroid Gland HCO₃-ATPase Activity". *Bull. Of Geo. Nat. Acad of Sci*. 2008, V. 2, 4, 104-108
44. Koshoridze N., Kuchukashvili Z. "Investigation of the Mg-HCO₃-ATPase activity of throyd tissue cells under various pathologies". 2012, V. 72, 5. Pp. 363-368
45. Кошоридзе Н. И., Менабде К. О., Сургуладзе Н. Б., Вардиашвили Т. М., Соломония Р. Е., Алексидзе Н. Е. Влияние Эндогенных Лектинов на HCO₃- АТФ-азную активность в клетках глии головного мозга. *Укр. Биохим. Журн.* 2007, т. 796 36 12-18.
46. Tietz, N. W. (ed.), *Clinical Guide to Laboratory test*; 3rd edition, WB Saunders Co, (1995)
47. Drakulich D. A., Spellmon C., Terry D. H. "Effect of the ecto-ATPase inhibitor, ARL 67156, on the bovine chromaffin cell response to ATP" *Eur J. Pharmacology*, 2004, 485, 137-140.
48. Levesque S. A, Lavoie E. G, Lecka J, Bigonnesse F, Sevigny J. "Specificity of the ecto-ATPase inhibitor ARL 67156 on human and mouse ectonucleotidases. *Br J Pharmacol*. 2007, 152: 141-150.
49. Dombrowski KE, Ke Y, Brewer KA, Kapp JA. Ecto-ATPase: an activation marker necessary for effector cell function. *Immunol Rev*. 1998, 161:111-118.

50. Jojua N, Sharikadze N, Zhuravliova E, Zaalishvili E, Mikeladze DG. Nobiletin restores impaired hippocampal mitochondrial bioenergetics in hypothyroidism through activation of matrix substrate-level phosphorylation. *Nutr Neurosci*. 2015, 18(5):225-31.
51. Zhuravliova E, Barbakadze T, Jojua N, Zaalishvili E, Shanshiashvili L, Natsvlishvili N, Kalandadze I, Narmania N, Chogovadze I, Mikeladze D. Synaptic and non-synaptic mitochondria in hippocampus of adult rats differ in their sensitivity to hypothyroidism. *Cell Mol Neurobiol*. 2012 Nov;32(8):