

p65, который был достаточно высок в клетках Caco-2, существенно снижается при увеличении концентрации глюкозы в среде. Это может свидетельствовать о вероятном влиянии глюкозы на экспрессию STIM1 через регулирование экспрессии транскрипционного фактора NF-κB.

Из литературных источников известно влияние глюкозы на экспрессию многих генов. Например, в ответ на высокий уровень глюкозы изменяется экспрессия генов *RASD1*, *GLRA1*, *VAC14*, *SLCO5A1*, *TMED3*, *SYT16*, *LEPREL2* и *CHRNA5* (Hall et al., 2018), подтверждая тем самым вероятность влияния высокой концентрации глюкозы на прямую или опосредованную экспрессию генов, кодирующих кальциевые каналы.

Фактически глюкоза регулирует пути поступления  $Ca^{2+}$ , а  $Ca^{2+}$  регулирует всасывание глюкозы. Считается, что высокая концентрация глюкозы деполаризует апикальную мембрану энтероцита в результате активации натрий-глюкозного котранспортера, что приводит к увеличению абсорбции  $Ca^{2+}$ . Связывание  $Ca^{2+}$  с белком кальбиндином-D9K предотвращает увеличение поглощения  $Ca^{2+}$  и стимулирует трансклеточный транспорт, который в принципе направлен на ослабление потенциального увеличения цитозольного  $Ca^{2+}$  (Morgan et al., 2007).

Однако исследования поглощения кальция в клетках почек показали, что кинетика связывания  $Ca^{2+}$  с кальбиндином-D28K достаточно медленная относительно повышения цитозольного  $Ca^{2+}$  (Koster et al., 1995). Поэтому вполне логично предположить, что снижение кальция в клетке при высокой концентрации глюкозы происходит за счет ограничения других путей поступления  $Ca^{2+}$  в клетку, например снижения входа SOCE.

В целом интеграция абсорбции глюкозы и поступления  $Ca^{2+}$  через кальциевые каналы представляет собой сложную систему реципрокных взаимодействий, которая позволяет быстро и точно сбалансировать пути поступления необходимых ионов и молекул при потреблении пищи.

Следует отметить, что мы не получили данных в пользу гипотезы, предполагающей всасывание глюкозы (особенно в диапазоне ее высоких концентраций) с помощью механизма облегченной диффузии с участием глюкозных транспортеров GLUT2 (Kellett, 2001; Kellett, Helliwell, 2000), которые при высоких углеводных нагрузках могут встраиваться в апикальную мембрану клеток кишечника и транспортировать глюкозу. Для понимания полной картины этого сложного процесса необходимы дополнительные исследования.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Клеточная линия Caco-2 получена из ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных» Института цитологии РАН (Санкт-Петербург), которая поддерживается Министерством науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-683).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа финансирована Российским научным фондом (проект № 22-25-00365).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В работе отсутствуют исследования человека или животных.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Грефнер Н.М., Громова Л.В., Груздков А.А., Комиссарчик Я.Ю.* 2010. Сравнительный анализ распределения переносчиков SGLT1 и GLUT2 в энтероцитах тонкой кишки крысы и клетках Caco2 при всасывании гексоз. Цитология. Т. 52. С. 580. (*Grefner N.M., Gromova L.V., Gruzdkov A.A., Komissarchik Ya.Yu.* 2010. Comparative analysis of SGLT1 and GLUT2 transporter distribution in rat small intestine enterocytes and Caco2 cells during hexose absorption. Tsitologiya. V. 52. P. 580.)
- Грефнер Н.М., Громова Л.В., Груздков А.А., Комиссарчик Я.Ю.* 2014. Взаимодействие транспортеров глюкозы SGLT1 и GLUT2 и цитоскелета в энтероцитах и клетках Caco2 при транспорте сахаров. Цитология. Т. 56. С. 749–757. (*Grefner L.V., Gromova A.A., Gruzdkov, Komissarchik Ya.Yu.* 2014. The interaction between SGLT1 or GLUT2 glucose transporter and the cytoskeleton in the enterocyte as well as Caco2 cell during hexose absorption. Tsitologiya. V. 56. P. 749.)
- Affleck J.A., Helliwell P.A., Kellett G.L.* 2003. Immunocytochemical detection of GLUT2 at the rat intestinal brush-border membrane. J. Histochem. Cytochem. V. 51. P. 1567.  
<https://doi.org/10.1177/002215540305101116>
- Alexander A.N., Carey H.V.* 2001. Involvement of PI 3-kinase in IGF-I stimulation of jejunal  $Na^{+}$ - $K^{+}$ -ATPase activity and nutrient absorption. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. V. 280. P. G222.  
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.280.2.G222>
- Blais A., Bissonnette P., Berteloot A.* Common characteristics for  $Na^{+}$ -dependent sugar transport in Caco-2 cells and human fetal colon. 1987. J. Membr. Biol. V. 99. P. 113.
- Bourzac J.F., L'eriger K., Larrivée J.F., Arguin G., Bilodeau M.S., Stankova J., Gendron F.P.* 2013. Glucose

- transporter 2 expression is down regulated following P2X7 activation in enterocytes. *J. Cell. Physiol.* V. 228. P. 120. <https://doi.org/10.1002/jcp.24111>
- Brown E.M. 2013. Role of the calcium-sensing receptor in extracellular calcium homeostasis. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* V. 27. P. 333. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.02.006>
- Chung H.K., Rathor N., Wang S.R., Wang J.Y., Rao J.N. 2015. RhoA enhances store-operated Ca<sup>2+</sup> entry and intestinal epithelial restitution by interacting with TRPC1 after wounding. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* V. 309. P. G759. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00185.2015>
- DebRoy A., Vogel S.M., Soni D., Sundivakkam P.C., Malik A.B., Tiruppathi C. 2014. Cooperative signaling via transcription factors NF- $\kappa$ B and AP1/c-Fos mediates endothelial cell STIM1 expression and hyperpermeability in response to endotoxin. *J. Biol. Chem.* V. 289. P. 24188. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.570051>
- Diaz R., Hurwitz S., Chattopadhyay N., Pines M., Yan, Y., Kifor O., Brown E.M. 1997. Cloning, expression, and tissue localization of the calcium-sensing receptor in chicken (*Gallus domesticus*). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* V. 273. P. R1008. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.273.3.R1008>
- Eylenstein A., Schmidt S., Gu S., Yang W., Schmid E., Schmidt E.M., Alesutan I., Szteyn K., Regel I., Shumilina E., Lang F. 2012. Transcription factor NF- $\kappa$ B regulates expression of pore-forming Ca<sup>2+</sup> channel unit, Orail1, and its activator, STIM1, to control Ca<sup>2+</sup> entry and affect cellular functions. *J. Biol. Chem.* V. 287. P. 2719. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.275925>
- Gorboulev V., Schürmann A., Vallon V., Kipp H., Jaschke A., Klessen D., Friedrich A., Scherneck S., Rieg T., Cunard R., Veyhl-Wichmann M., Srinivasan A., Balen D., Breljak D., Rexhepaj R., et al. 2012. Na<sup>+</sup>-D-glucose cotransporter SGLT1 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose-dependent incretin secretion. *Diabetes.* V. 61. P. 187. <https://doi.org/10.2337/db11-1029>
- Hall E., Nitert M.D., Volkov P., Malmgren S., Mulder H., Bacos K., Ling C. 2018. The effects of high glucose exposure on global gene expression and DNA methylation in human pancreatic islets. *Mol. Cell. Endocrinol.* V. 472. P. 67. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.11.019>
- Helliwell P.A., Rumsby M.G., Kellett G.L. 2003. Intestinal sugar absorption is regulated by phosphorylation and turnover of protein kinase C  $\beta$ II mediated by phosphatidylinositol 3-kinase-and mammalian target of rapamycin-dependent pathways. *J. Biol. Chem.* V. 278. P. 28644. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301479200>
- Hoenderop J.G., Nilius B., Bindels R.J. 2002. ECaC: the gatekeeper of transepithelial Ca<sup>2+</sup> transport. *Biochim. Biophys. Acta—Proteins Proteom.* V. 1600. P. 6. [https://doi.org/10.1016/s1570-9639\(02\)00438-7](https://doi.org/10.1016/s1570-9639(02)00438-7)
- Kellett G.L. 2001. The facilitated component of intestinal glucose absorption. *Physiol. J.* V. 531. P. 585. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.0585h.x>
- Kellett G.L., Helliwell P.A. 2000. The diffusive component of intestinal glucose absorption is mediated by the glucose-induced recruitment of GLUT2 to the brush-border membrane. *Biochem. J.* V. 350. P. 155.
- Koster H.P.G., Hartog A., Bindels R.J.M. 1995. Calbindin-D28K facilitates cytosolic calcium diffusion without interfering with calcium signaling. *Cell Calcium.* V. 18. P. 187. [https://doi.org/10.1016/0143-4160\(95\)90063-2](https://doi.org/10.1016/0143-4160(95)90063-2)
- Kuhre R.E., Christiansen C.B., Saltiel M.Y., Wewer Albrechtsen N.J., Holst J.J. 2017. On the relationship between glucose absorption and glucose-stimulated secretion of GLP-1, neurotensin, and PYY from different intestinal segments in the rat. *Physiol. Rep.* V. 5. P. e13507. <https://doi.org/10.14814/phy2.13507>
- Mace O.J., Morgan E.L., Affleck J.A., Lister N., Kellett G.L. 2007. Calcium absorption by Cav1.3 induces terminal web myosin II phosphorylation and apical GLUT2 insertion in rat intestine. *Physiol. J.* V. 580. P. 605. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.124784>
- Mace O.J., Morgan E.L., Affleck J.A., Lister N., Kellett G.L. 2007. Calcium absorption by Cav1.3 induces terminal web myosin II phosphorylation and apical GLUT2 insertion in rat intestine. *Physiol. J.* V. 580. P. 605. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.124784>
- Morgan E.L., Mace O.J., Affleck J., Kellett G.L. 2007. Apical GLUT2 and Cav1.3: regulation of rat intestinal glucose and calcium absorption. *Physiol. J.* V. 580. P. 593. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.124768>
- Nijenhuis T., Hoenderop J.G., Nilius B., Bindels R.J. 2003. (Patho) physiological implications of the novel epithelial Ca<sup>2+</sup> channels TRPV5 and TRPV6. *Pflügers Arch.* V. 446. P. 401. <https://doi.org/10.1007/s00424-003-1038-7>
- Peng J.B., Chen X.Z., Berger U.V., Vassilev P.M., Tsukaguchi H., Brown E.M., Hediger M.A. 1999. Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J. Biol. Chem.* V. 274. P. 22739. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.32.22739>
- Röder P.V., Geillinger K.E., Zietek T.S., Thorens B., Koepsell H., Daniel H. 2014. The role of SGLT1 and GLUT2 in intestinal glucose transport and sensing. *PLoS one.* V. 9. P. e89977. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089977>
- Tharabenjasin P., Douard V., Patel C., Krishnamra N., Johnson R.J., Zuo J., Ferraris R.P. 2014. Acute interactions between intestinal sugar and calcium transport *in vitro*. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* V. 306. P. G1–G12.
- Westerhout J., van de Steeg E., Grossouw D., Zejdner E.E., Krul C.A.M., Verwei M., Wortelboer H.M. 2014. A new approach to predict human intestinal absorption using porcine intestinal tissue and biorelevant matrices. *Eur. J. Pharm. Sci.* V. 63. P. 167. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2014.07.003>
- Yee S. 1997. *In vitro* permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict *in vivo* (small intestinal) absorption in man—fact or myth. *Pharm. Res.* V. 14. P. 763. <https://doi.org/10.1023/a:1012102522787>
- Zheng Y., Scow J.S., Duenes J.A., Sarr M.G. 2012. Mechanisms of glucose uptake in intestinal cell lines: role of GLUT2. *Surgery.* V. 151. P. 13. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2011.07.010>

## ROLE OF CALCIUM CHANNELS IN GLUCOSE UPTAKE REGULATION IN THE *IN VITRO* MODEL OF POLARIZED INTESTINAL EPITHELIUM

D. E. Bobkov<sup>a</sup>, A. V. Lukacheva<sup>a</sup>, L. V. Kever<sup>a</sup>, V. V. Furman<sup>a</sup>, S. B. Semenova<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup> *Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064, Russia*

\* *E-mail: svsem@incras.ru*

Glucose is the main energy substrate that ensures metabolic processes in the human and animal bodies. Impaired carbohydrate metabolism is often associated with obesity and concomitant diseases, such as cardiovascular diseases, arterial hypertension, insulin resistance, etc. Current data indicate that intestinal glucose absorption is coupled with Ca<sup>2+</sup> influx, but additional research is needed to confirm this interaction. We used a cellular model of human intestinal epithelium to elucidate the role of Ca<sup>2+</sup> channels in the regulation of glucose absorption. The results of immunofluorescence and immunoelectron microscopy showed that high cellular glucose loading (50 mM) leads to an increase in the density of TRPV6 calcium channels on the apical membrane of the intestinal epithelium. The level of the calcium sensor STIM1, responsible for store-dependent calcium entry (SOCE), on the contrary, showed a decrease when Caco-2 cells were overloaded with glucose, which was accompanied by a decrease in SOCE. Excessive saturation of Caco-2 cells with glucose also led to a decrease in the expression level of the NF-κB transcription factor p65 subunit responsible for the expression of STIM1. The results showed that Ca<sup>2+</sup> channels are not only involved in the regulation of glucose uptake, but may themselves be under the control of glucose.

*Keywords:* cell, intestinal epithelial, calcium entry, TRPV6 calcium channel, glucose, GLUT2 transporter