

Na/K-ATPase: PROPERTIES AND BIOLOGICAL FUNCTIONS

A. A. BOLDYREV

Na/K-activated ATPase is an enzyme of plasma membrane of all animal cells, which specifically accumulates potassium ions in the cell and pumps sodium ions outward using ATP energy for this work. The difference in concentration of monovalent cations created by the enzyme is used by the cell to generate action potential, to synthesise cell constituents, to regulate water-salt balance, and metabolic pathway.

Na/K-ATФаза – фермент клеточной мембраны животных тканей, который избирательно выкачивает из клетки ионы натрия и аккумулирует в ней ионы калия, используя для этой работы энергию АТФ. Создаваемая ферментом разница концентраций одновалентных катионов используется для протекания ключевых реакций жизнедеятельности – генерации возбуждения, водно-солевого обмена, а также для регуляции клеточного метаболизма.

Na/K-ATФаза – СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

А. А. БОЛДЫРЕВ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ

Ионный состав клеток (до тех пор, пока они проявляют свойства живого) отличается от ионного состава окружающей среды. Наиболее существенным отличием является асимметричное распределение одновалентных ионов натрия и калия: клетки активно накапливают калий и выбрасывают в окружающую среду натрий. Так создается разность концентраций одновалентных катионов на клеточной мембране (табл. 1). Это свойство появилось, по-видимому, на заре возникновения жизни и сохранилось до наших дней как существенная черта жизнедеятельности. Как видно из табл. 1, ионный состав межклеточной среды близок ионному составу морской воды – первичной среды, в которой, вероятно, возникла жизнь.

Ионная асимметрия используется для генерации возбуждения в нервных и мышечных клетках. Однако наличие ионной асимметрии по обе стороны мембраны важно и для тех клеток, которые неспособны генерировать возбуждающий потенциал. Для осуществления клеточного метаболизма необходимо иметь постоянный приток в цитоплазму субстратов жизнедеятельности – сахаров и аминокислот. Транспорт этих молекул не может протекать по принципу простой диффузии: проницаемость мембраны для этих соединений стала бы лимитировать скорость обмена веществ. В клетках существует

Таблица 1. Содержание основных ионов в клетках и внеклеточной жидкости некоторых животных в сравнении с ионным составом морской воды (в ммоль/л)

Объект	Натрий	Калий	Кальций	Магний	Хлор
Крыса					
мышцы	27	101	1,5	11,0	16
плазма крови	145	6,2	3,1	1,6	116
Лягушка					
мышцы	24	85	2,5	11,3	10
плазма крови	104	2,5	8,5	1,2	74
Осьминог					
мышцы	81	101	3,7	12,7	93
жидкость тела	525	12,2	11,6	57,2	480
Морская вода	440	9,5	9,6	56,0	535

специальный путь переноса таких субстратов с помощью белков-переносчиков, движущей силой для работы которых является разница концентраций ионов Na по обе стороны мембраны. В этом случае транспорт необходимых субстратов в клетку осуществляется совместно с ионами натрия. Таким образом, асимметричное распределение ионов по обе стороны мембраны играет роль дополнительного депо энергии и обеспечивает энергетическую устойчивость метаболизма.

Активный транспорт ионов против их концентрационного градиента зависит от наличия в клетке АТФ. В нейронах мозга, например, на его осуществление затрачивается до 30% всего фонда аденозинтрифосфата, причем спящий мозг расходует на поддержание разницы в распределении одновалентных катионов внутри и вне нейронов почти

столько же энергии, сколько и бодрствующий. Использует эту энергию для реализации активного транспорта одновалентных катионов через клеточную мембрану специальный фермент – (Na/K)-активируемая аденозинтрифосфатаза или Na/K-АТФаза. Она представляет собой сложный белок, встроенный в наружную мембрану клетки и имеющий центры связывания для ионов натрия и калия, а также активный центр, где осуществляются связывание и гидролиз АТФ (рис. 1).

Функциональная единица фермента состоит из двух полипептидных цепей: большей (альфа-субъединицы) и меньшей (бета-субъединицы), входящих в состав ферментного комплекса в соотношении 1 : 1. Меньшая субъединица пересекает мембрану только один раз, в то время как большая – много раз, образуя несколько петель, при этом оба конца пептидной

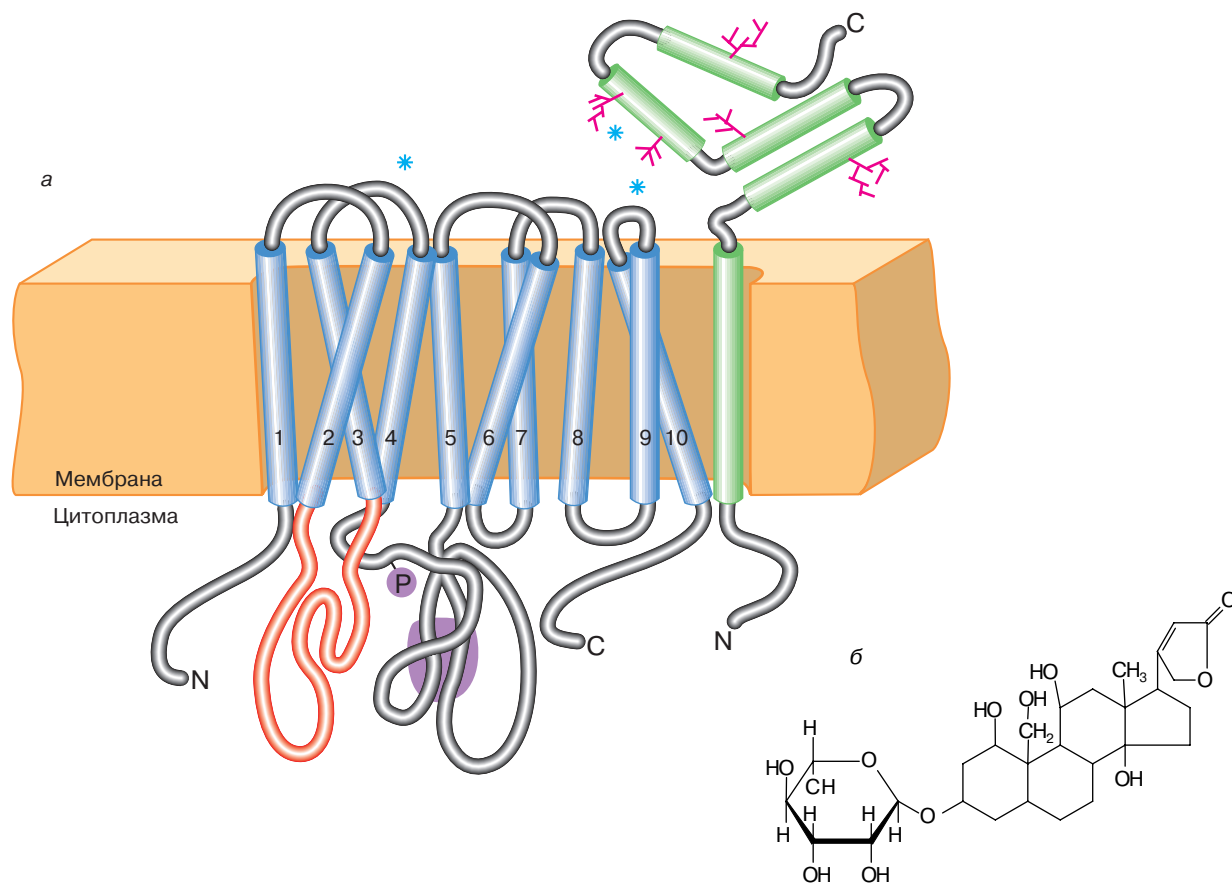


Рис. 1. Схема расположения Na/K-АТФазы в клеточной мембране (а) и структура ее специфического ингибитора уабаина (б). Протомер фермента состоит из одной альфа- и одной бета-субъединицы. Расположение N- и C-концов полипептидных цепей указано соответствующими буквами. Мембранная часть альфа-субъединицы (окрашена голубым) представлена 10 альфа-спиральями (колоннами), пересекающими мембрану и образующими несколько петель. Петля между 2-й и 3-й колоннами (помечена красным) принимает участие в формировании центра связывания ионов. Петля между 4-й и 5-й колоннами локализованы центр связывания АТФ (показан сиреневым цветом) и участок фосфорилирования (Р). Зеленым цветом окрашены альфа-спиральные участки бета-субъединицы, к С-концу которой присоединены гликозильные радикалы. Звездочками отмечены вероятные участки связывания специфического ингибитора Na/K-АТФазы – уабаина

цепи обращены в цитоплазму. Активный центр фермента обращен в цитоплазму и доступен для цитоплазматического АТФ. Центры связывания переносимых ионов локализованы в петле между второй и третьей спиралями, пронизывающими мембрану. Таким образом, альфа-субъединица может выполнять функцию насоса независимо от бета-субъединицы. Однако оба полипептида образуют компактную глобулу, насквозь пронизывающую мембрану.

Та часть бета-субъединицы, которая обращена во внеклеточную среду, несет на себе ковалентно присоединенные углеводные фрагменты. По массе и наличию углеводов этот полипептид можно отнести к лектинам — мембранным гликопротеинам, которые отвечают за межклеточное узнавание и адгезию. В процессе белкового синтеза обе субъединицы встраиваются в мембрану одновременно. Существует мнение, что бета-субъединица обеспечивает правильную ориентацию альфа-субъединицы в мембране.

ПОЧЕМУ НАТРИЙ И КАЛИЙ БЫЛИ ВЫБРАНЫ ПРИРОДОЙ ДЛЯ ОТЛИЧИЯ ЖИВОГО ОТ НЕЖИВОГО

Одно из неотъемлемых свойств живой клетки — способность реагировать на повреждение. Ионная асимметрия является условием этой реакции, и, вероятно, калий и натрий выбраны живыми системами как своеобразные индикаторы повреждения мембраны из-за их повсеместного распространения. Но зачем клетка концентрирует калий и выбрасывает натрий, а не наоборот? Для того ли, чтобы создать среду с противоположным (асимметричным) ионным составом относительно внешней среды, которой для первичных организмов являлась морская вода? Или из-за различий в свойствах ионов натрия и калия? Или, наконец, вследствие их различного влияния на метаболизм клетки?

Не исключено, что все эти причины являются важными. Действительно, при том ионном составе среды обитания, с которым, по-видимому, столкнулись первичные формы жизни, накопление натрия внутри клетки для создания электрохимического потенциала, достаточного для информации о целостности мембраны, должно было бы составлять несколько молей на 1 л внутриклеточной среды, для калия же эта величина составляет всего 0,10–0,12 моля на 1 л. При этом создается трансмембранный потенциал клетки величиной 90–120 мВ.

Кроме того, натрий и калий в ионизированном состоянии не отличаются друг от друга по заряду и числу создаваемых ими координационных связей, но существенно отличаются по величине предельной температуры, то есть той температуры, выше которой разрешена их гидратация ($T_{\text{пред}}$). Для натрия она составляет +20°C, а для калия +70°C. Таким образом, по крайней мере в диапазоне температур выше +20°C, в котором функционируют большинство живых организмов, натрий легко взаимодействует с

молекулами воды, образуя гидратную оболочку, а калий отталкивает воду и потому лишен гидратной оболочки (табл. 2). Таким образом, ион калия по своим свойствам является более гидрофобным, чем ион натрия.

Поскольку гидратированный ион натрия близок по размерам к негидратированному иону калия, то ни по заряду, ни по размерам эти ионы не отличаются друг от друга и наиболее существенным различием для их дискриминации является величина гидрофобности. Количественно эта величина может быть выражена энергией гидратации, которая при комнатной температуре составляет для натрия +1,03 кДж/моль, а для калия –1,05 кДж/моль. Могут ли биологические молекулы использовать этот параметр для отбора и распознавания ионов?

Липиды хорошо различают Na^+ и K^+ , вероятно, именно благодаря различиям в их гидрофобности. Если приготовить везикулы из смеси природных липидов (такой упрощенный прообраз клеточных структур называют липосомами), оказывается, что скорость простой диффузии через их мембраны будет в 3–7 раз выше для калия, чем для натрия (в зависимости от состава липидов, ионной силы и других условий). Таким образом, “неживые” липосомы способны создавать градиент одновалентных ионов на своей мембране, похожий на тот, что создается живыми клетками.

Нуклеиновые кислоты, несущие информацию о синтезе белков и этим определяющие белковое “лицо” клетки, тоже реагируют на изменение ионного состава среды, в которой они функционируют. Так, ионы натрия влияют на упаковку и взаимодействие нуклеотидов в двойной спирали, а ионы калия регулируют прочность контактов между рибосомами и РНК, с участием которых происходит синтез полипептидной цепи. Белковые молекулы также не являются исключением. Они способны различать натрий и калий в водных растворах. Интенсивность многих ферментативных процессов в клетке зависит от ионов натрия и калия: в большинстве случаев ион калия является активатором, а ион натрия — ингибитором клеточных реакций. Исключение составляют процессы синтеза липидов, активируемые натрием (табл. 3). Таким образом, повреждение клеточной мембраны и увеличение соотношения Na/K в клетке ускоряют образование липидов, необходимых для репарации мембраны.

Таблица 2. Физико-химические свойства ионов натрия и калия

Ион	Радиус, Å	Координационное число	Равновесный потенциал, мВ	Предельная температура, °C
Na^+	0,98	6–8	+60	20
K^+	1,33	6	–94	70

Таблица 3. Метаболические реакции, регулируемые ионами натрия и калия [6]

Реакция	Активатор	Ингибитор
Синтез ацетилхолина	K ⁺	Na ⁺
Синтез белка на рибосомах	K ⁺	Na ⁺
Синтез липидов	Na ⁺	—
Дыхание митохондрий	K ⁺	Na ⁺
ДНК-полимеразная реакция	K ⁺	Na ⁺
РНК-полимеразная реакция	K ⁺	—
Фосфофруктокиназная реакция	K ⁺	—

КАК РАБОТАЕТ Na/K-АТФаза

Специфическим механизмом распознавания ионов калия и натрия обладает и Na/K-АТФаза. Впервые этот фермент был обнаружен Йенсом Христианом Скоу в 1957 году. За несколько лет до этого (в 1953 году) Г. Шатцман описал эффект группы соединений, называемых сердечными гликозидами, заключающийся в подавлении АТФ-зависимого переноса ионов натрия и калия через мембрану эритроцитов. Автор показал, что в результате выдерживания клеток в среде с этими соединениями разница в концентрации соответствующих одновалентных катионов по обе стороны мембраны уменьшается. Он предположил, что это происходит вследствие подавления активного транспорта катионов, который в присутствии гликозидов переставал компенсировать их пассивную утечку. Наиболее эффективным представителем этой группы гликозидов являлся строфантин G (убаин).

Й. Скоу решил выявить ту ферментную систему, которая обеспечивает активный транспорт ионов Na и K через клеточную мембрану. Она должна была, по его мнению, удовлетворять следующим условиям: осуществлять гидролиз АТФ, используя этот процесс как источник энергии для переноса ионов Na и K против их концентрационных градиентов; активироваться переносимыми ею ионами; ингибироваться убаином. Для исследований Скоу выбрал аксоны краба: в нервных клетках активный транспорт ионов ярко выражен. Действительно, оказалось, что гомогенат нервных клеток гидролизует АТФ и совместное присутствие ионов натрия и калия активирует этот процесс, а убаин подавляет его. Выяснилось, что активность фермента регулируется одновалентными катионами — изменение соотношения Na/K в реакционной среде специфически изменяет активность фермента (рис. 2). Оптимум активности приходится на 130 мМ Na⁺ и 20 мМ K⁺ при их сумме 150 мМ, типичной для нервных клеток.

Однако в покоящейся клетке соотношение концентраций ионов натрия и калия противоположно тому, которое необходимо для максимальной активности Na/K-АТФазы (см. табл. 1). В этих условиях

она составляет лишь 10–12%. Однако стоит немного повредить клеточную мембрану или другим способом активировать вход в клетку натрия и выход из нее калия, как произойдет активация АТФазы и ее работа будет восстанавливать ионную асимметрию. Таким образом, Na/K-АТФаза работает в клетке как молекулярная машина по перекачке ионов натрия и калия, поэтому ее также называют Na/K-насосом.

Гидролиз АТФ, чтобы обеспечить энергией активный транспорт ионов, Na/K-АТФаза осуществляет сложную многостадийную реакцию, в которой участвуют ионы натрия, калия и магния, а также АТФ. Фермент имеет лабильную структуру. Он легко изменяет свою конформацию (так называют взаимное расположение и упаковку отдельных частей молекулы белка в пространстве) в зависимости от того, какой ион к нему присоединяется.

Начинается гидролитический цикл с взаимодействия белка с ионами натрия. “Натриевая” конформация фермента (или Na-конформер) обозначается как E₁. Конформация, обладающая высоким сродством к калию, обозначается как E₂ (K-конформер). Переход от K-конформера к Na-конформеру (E₂ → E₁) вызывается присоединением натрия (вытеснением калия) и ускоряется АТФ.

Уже в первых экспериментах было показано, что в присутствии натрия фермент легко взаимодействует с АТФ, в результате чего терминальный фосфат АТФ переносится на карбоксил аспарагиновой кислоты белковой цепи, образуя фосфорилированный фермент¹ (сокращенно E–P), где E обозначает молекулу белка-фермента, а P — фосфорильный остаток. Было показано, что гидролиз этой связи

¹ Фосфофермент является промежуточным продуктом АТФазной реакции. Он может находиться в двух конформационных состояниях, условно обозначаемых как E₁ и E₂. Первая форма обладает повышенным сродством к ионам натрия, а вторая — к ионам калия. Переход между ними сопровождается изменением сродства фермента к переносимым катионам.

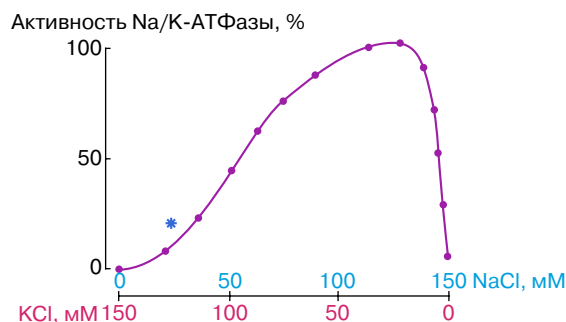
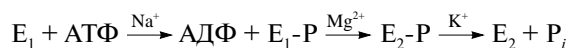


Рис. 2. Зависимость активности Na/K-АТФазы от изменяющегося соотношения Na/K. Звездочкой отмечена активность фермента, характерная для покоящейся нервной клетки

(дефосфорилирование фермента) активируется калием, и первая схема гидролиза АТФ, катализируемого Na/K-АТФазой, выглядела так (знак P_i обозначает неорганический фосфат – inorganic phosphate):



Позже было установлено, что при гидролизе АТФ действительно наблюдается образование фосфорилированного интермедиата. В настоящее время цикл Na/K-АТФазы охарактеризован более подробно. Основные стадии можно описать следующим образом (рис. 3).

1. Когда фермент находится в состоянии E_1 , он способен взаимодействовать с ионами натрия и АТФ с внутренней стороны мембраны. В результате фосфорилирования молекулы образуется $E_1\text{-P}$, а АДФ высвобождается из активного центра и возвращается в цитоплазму.

2. Фосфорилированный белок переходит в состояние, при котором ионы натрия не способны высвободиться ни по внутреннюю, ни по внешнюю сторону мембраны – они недоступны для обмена, окклюдированы.

3. Переход фермента в следующую стадию существенно активируется ионами магния. Хотя специальных центров связывания магния на молекуле фермента не обнаружено, его эффект очень важен – он заключается в ускорении перехода фосфорилированного фермента из конформации E_1 в конформацию E_2 . Эта стадия отражает молекулярные перемещения отдельных частей белковой глобулы, связанные с непосредственным переносом ионов натрия через мембрану Na/K-насосом. Таким образом, перенос натрия через мембрану осуществляется синхронно с конформационным переходом $E_1 \rightarrow E_2$. Вследствие этого конформационного перехода центр связывания ионов становится более гидрофобным, и ионы натрия диссоциируют от фермента по другую сторону мембраны, где с этим же центром связываются ионы калия.

4. Калий подвергается такой же окклюзии, что и натрий, в ходе этого процесса осуществляется перенос ионов калия через мембрану.

5. Комплекс $E_2\text{P}$ отличается от своего предшественника тем, что окружение фосфатной группировки становится более гидрофильным. Фосфат оказывается доступным для атаки молекулой воды.

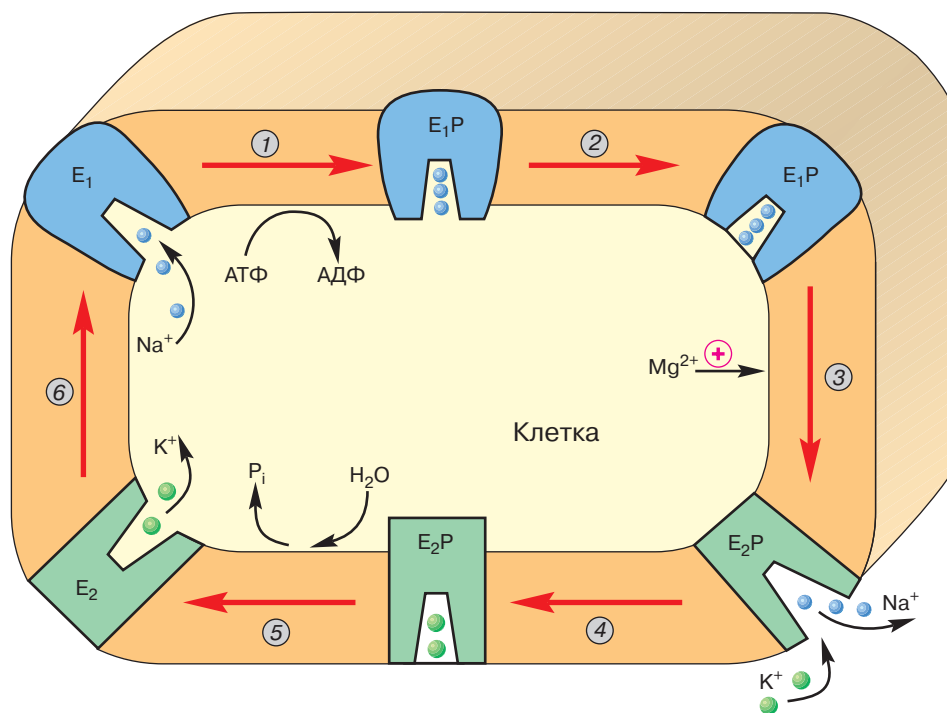


Рис. 3. Реакционный цикл Na/K-АТФазы. Шесть основных последовательных реакций включают связывание ионов натрия E_1 -конформером, его взаимодействие с АТФ и образование фосфорилированного интермедиата (стадия 1), окклюзию ионов натрия конформацией $E_1\text{P}$ (стадия 2), активируемый ионами магния переход $E_1\text{P} \rightarrow E_2\text{P}$, приводящий к высвобождению ионов натрия во внеклеточную среду и связыванию с ионным центром внеклеточного калия (стадия 3), окклюдирование ионов калия (стадия 4), дефосфорилирование фермента, приводящее к высвобождению ионов калия во внутриклеточное пространство (стадия 5), и переход конформации E_2 в конформацию E_1 , приводящий к началу нового цикла (стадия 6)

Происходит водный гидролиз E–P (дефосфорилирование фосфофермента) и высвобождение неорганического фосфата во внутриклеточную среду.

6. После этого ионы калия также диссоциируют от центра связывания, высвобождаясь в цитоплазму. Их место занимает натрий. Последняя стадия цикла одновременно подготавливает фермент для начала нового цикла – конформер E₂ превращается в конформер E₁. Этот процесс ускоряется АТФ, повышающим сродство фермента к натрию и понижающим его сродство к калию.

Так происходит активный транспорт ионов натрия из клетки и калия в клетку, а энергия АТФ тратится на оплату перехода фермента из одной конформации в другую (см. рис. 3). Таким образом, в ходе ферментативного процесса перенос ионов натрия и калия осуществляется одним и тем же ионным центром фермента, последовательно изменяющим свое сродство к переносимым ионам при изменении конформации Na/K-АТФазы.

Ионные центры фермента расположены в петле между 2-м и 3-м альфа-спиральными участками фермента, пересекающими мембрану (см. рис. 1). Взаимодействие ионов с этими центрами обеспечивается благодаря координационным связям с атомами кислорода, принадлежащими дикарбоновым аминокислотам белка – аспарагиновой и глутаминовой. Кислород способен осуществлять координационные взаимодействия с лигандами, образуя решетку двух типов. В одном случае получается рыхлая и доступная для молекул воды структура, а в другом атомы упакованы более плотно. В первом случае ионный центр может связать три иона натрия, а во втором – два иона калия. Этим и объясняется тот факт, что при гидролизе одной молекулы АТФ фермент обменивает три иона натрия на два иона калия (рис. 4).

В образовании координационных связей с ионами принимают участие 12 атомов кислорода карбоксильных групп дикарбоновых аминокислот белка – глутаминовой и аспарагиновой, расположенных в петле между 2-й и 3-й колоннами альфа-субъединицы, пересекающими мембрану (рис. 4). Точная упаковка этой петли не установлена, однако показано, что в ее состав входят 15 дикарбоновых аминокислот, так что выбор групп для образования центра связывания ионов вполне достаточен.

Конформационная перестройка, претерпеваемая белком при переходе E₁ → E₂, обеспечивает перестройку ионных центров и последующее перемещение петли, содержащей центр связывания ионов, внутрь мембраны. Это приводит к изменению сродства к переносимым ионам и одновременно делает ионный центр доступным для внешней или внутренней среды.

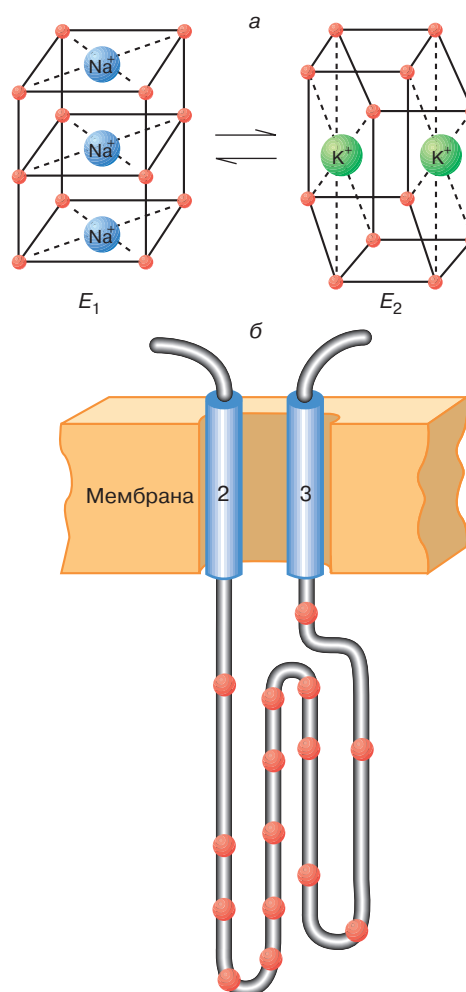


Рис. 4. Связывание ионов натрия и калия в ионных центрах фермента: а – кристаллическая решетка, создаваемая 12 кислородными атомами дикарбоновых аминокислот в конформации, соответствующей связыванию трех ионов натрия (E₁) или двух ионов калия (E₂); б – петля между 2-й и 3-й колоннами пептидной цепи альфа-субъединицы, участвующая в формировании ионного центра (красными точками указана локализация дикарбоновых аминокислот). Вдвигание петли между колоннами 2 и 3 при конформационном переходе фермента обеспечивает изменение доступности ионного центра с наружной или внутренней стороны мембраны (из [5] с модификациями)

ОЛИГОМЕРНАЯ СТРУКТУРА Na/K-АТФазы

Оценивая размеры белковых глобул Na/K-АТФазы на электронно-микроскопических фотографиях, исследователи обнаружили, что размеры фермента превышают молекулярную массу протомера, рассчитанную из его первичной структуры. Это противоречие можно было объяснить таким образом, что отдельные функциональные единицы фермента в

мембране (протомеры) “сплываются”, образуя более крупные ансамбли из нескольких молекул, называемые олигомерами. Если допустить в первом приближении, что каждая функциональная единица Na/K-АТФазы представляет собой пронизывающий мембрану цилиндр, то электронно-микроскопические размеры белковых глобул соответствуют тому, что в состав белкового олигомера входят четыре таких цилиндра – (альфа + бета)-протомера.

Однако то обстоятельство, что протомеры сближены между собой, еще не является доказательством их взаимодействия. Для того чтобы выяснить, объединяются ли протомеры в единый функциональный ансамбль в процессе работы фермента, был использован так называемый метод молекулярной мишени. Суть его заключается в том, что исследуемый биологический объект облучают пучком высокоэнергетических частиц (обычно используют гамма-радиацию кобальтовой пушки, генерирующей сфокусированный пучок нейтронов). Активность фермента в результате такого воздействия уменьшается экспоненциально, и показатель экспоненты зависит от размера мишени – для повреждения маленьких частиц нужна большая доза радиации, в то время как для крупных частиц достаточна меньшая доза – они являются более уязвимыми. Из этой зависимости можно рассчитать размер макромолекулы функционирующего фермента: если протомеры взаимодействуют в ходе работы, то масса молекулярной мишени будет больше массы одного протомера. Применение этого метода показало, что молекулярные размеры белка в несколько раз превышают размеры протомера, но только в том случае, когда в качестве субстрата используется АТФ.

Известно, что Na/K-АТФаза может гидролизовать и другие нуклеотиды – ГТФ, УТФ – и обеспечивать в ходе этой реакции активный транспорт ионов натрия и калия. Однако скорость такой реакции мала. Если при использовании метода молекулярной мишени взять в качестве субстрата не АТФ, а ГТФ, то обнаруживаемые размеры фермента окажутся равны размерам одного (альфа + бета)-протомера. На основании этих результатов был сделан вывод, что при гидролизе АТФ фермент способен объединяться в олигомерные ансамбли, состоящие из нескольких протомеров.

Сопоставление скоростей реакции, катализируемой ферментом, работающим в виде олигомерного ансамбля (при гидролизе АТФ) или в виде независимых протомеров (при гидролизе ГТФ), показывает, что, объединяясь в ансамбли, молекулы фермента увеличивают скорость функционирования. В этом и заключается биологическое значение олигомерной структуры фермента. Интересно, что олигомеры образуются лишь в случае использования АТФ. Это показывает, что кроме роли источника энергии АТФ может выполнять в клетке дополнительную регулируемую роль, которая заключается

в объединении отдельных протомеров Na/K-АТФазы в олигомерный ансамбль.

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА

Активность Na/K-АТФазы в клетке регулируется многими факторами. На первом месте стоят соотношение Na/K и доступность АТФ – это факторы так называемой краткосрочной регуляции активности. Содержание АТФ в клетке, как правило, мало изменяется в нормальных условиях, хотя может резко снижаться при патологических нарушениях. В таком случае снижение уровня АТФ будет критическим для поддержания достаточной активности Na/K-насоса. Соотношение Na/K в клетках зависит от многих факторов и, в свою очередь, является фактором, регулирующим функционирование Na/K-насоса.

В клетке Na/K-АТФаза подвергается фосфорилированию рядом протеинкиназ (ферментов, которые переносят терминальный фосфат АТФ на белки-мишени и тем самым модифицируют их активность). Установлено, что в молекуле Na/K-АТФазы протеинкиназы могут фосфорилировать остатки треонина или серина. Эти фосфорилирующиеся участки расположены вне активного центра; функциональное значение данного явления окончательно не установлено. По некоторым наблюдениям, фосфорилирование Na/K-АТФазы протеинкиназами уменьшает ее активность. Если эти данные подтвердятся, рассматриваемый пример можно будет считать иллюстрацией долгосрочной регуляции активности. Восстановить свою активность после атаки протеинкиназ Na/K-АТФаза может при помощи других регуляторных ферментов – фосфатаз, которые обеспечивают дефосфорилирование белков. К долгосрочным механизмам можно отнести и гормональную регуляцию синтеза Na/K-АТФазы, осуществляющуюся на уровне генетического аппарата (например, активацию синтеза фермента гормоном, регулирующим минеральный обмен, – альдостероном).

Интересную проблему представляет ингибирование Na/K-АТФазы сердца убаином и другими сердечными гликозидами. Механизм действия убаина и родственных ему алкалоидов растительного происхождения на организм человека и животных был долгое время неясным, хотя их длительное применение в медицине в качестве кардиотонических препаратов оправдывало присвоение им названия сердечных гликозидов. Изоформа Na/K-АТФазы, обнаруживаемая в клетках сердца, гораздо более чувствительна к убаину, чем, например, изоформа фермента, обнаруживаемая в почечной ткани.

Ингибирование Na/K-АТФазы сердечной мышцы приводит к усилению сердечных сокращений, то есть к положительному инотропному эффекту. Более того, частичное ингибирование Na/K-насоса сердца вызывает усиление синтетических процессов

в миокарде и увеличение мышечной массы, что важно для увеличения эффективности работы сердечной мышцы. Почему же Na/K-АТФаза сердца животных обладает избирательной чувствительностью к соединениям, являющимся типичными представителями растительного мира?

В мембране сердечных клеток (кардиомиоцитов) кроме Na/K-насоса имеются и другие белки, включающиеся в регуляцию ионного гомеостаза. Важную роль играет специальный белок-переносчик, который способен осуществлять обмен через мембрану миоцита ионов натрия на ионы кальция, — Na/Ca-обменник. Он может пополнять запасы ионов кальция, участвующих в мышечном сокращении. Но это возможно лишь при наличии внутри клетки ионов натрия, концентрацию которых можно повысить в результате ингибирования Na/K-насоса (рис. 5). Так, благодаря действию сердечных гликозидов в кардиомиоцитах восстанавливается содержание ионов кальция, регулирующих сократительную активность.

Было естественно предположить, что действие убаина имитирует эффект природных соединений, вырабатываемых животным организмом и циркулирующих в кровяном русле. Действительно, сыворотка крови человека обладает выраженной способностью ингибировать Na/K-АТФазу. Ингибирующий эффект сыворотки повышается у пациентов с нарушениями водно-солевого обмена, что наблюдается при гипертонии. Исследования показали, что стероидные соединения, подобные убаину, вырабатываются и служат для регуляции активности Na/K-АТФазы в организме человека и животных. В настоящее время обнаружены также пептидные ингибиторы Na/K-АТФазы, биологические эффекты которых направлены на регуляцию активности этого фермента в сердце, почках и других тканях. Наличие множества путей регуляции подтверждает важность Na/K-АТФазы для метаболизма клетки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Na/K-АТФаза является ферментом наружной мембраны клеток всех тканей животных, который участвует в поддержании одного из существенных свойств, отличающих живые клетки от мертвых, — асимметричного распределения ионов натрия и калия по обе стороны клеточной мембраны. Асимметричное распределение одновалентных катионов важно и для формирования мембранного потенциала клетки, и для транспорта метаболитов через клеточную мембрану, и для регуляции внутриклеточных реакций обмена веществ.

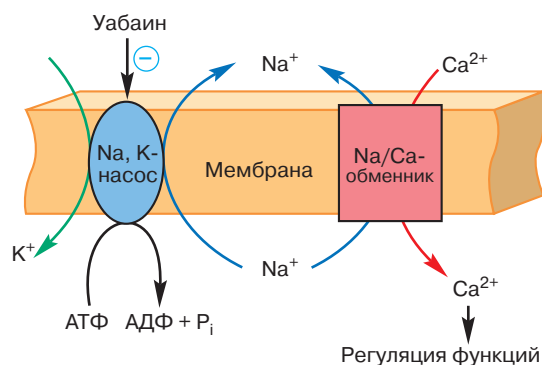


Рис. 5. Взаимодействие Na/K-АТФазы с Na/Ca-обменником в клеточной мембране. Ингибирование Na/K-насоса повышает содержание ионов натрия внутри клетки и активирует работу Na/Ca-обменника, который аккумулирует в клетке ионы кальция в обмен на ионы натрия и восстанавливает запасы внутриклеточного кальция, выполняющего регуляторные функции

Как мы видели, клетка обладает несколькими регуляторными механизмами, которые обеспечивают изменение интенсивности работы Na/K-насоса в соответствии с изменяющимися потребностями клетки. Это позволяет ей адекватно отвечать на изменения условий функционирования и обеспечивает устойчивость клеточного метаболизма.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А.А., Твердислов В.А. Молекулярная организация и механизм функционирования Na-насоса. М.: ВИНТИ, 1978.
2. Болдырев А.А. Парадоксы окислительного метаболизма мозга // Биохимия. 1995. Т. 60. С. 1173–1177.
3. Колб В.А., Спиринов А.С. Рибосомный канал для растущего пептида // Успехи соврем. биологии. 1993. Т. 33. С. 3–12.
4. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот / Под ред. А.С. Спирина. М.: Высш. шк., 1990.
5. Твердислов В.А., Тихонов А.Н., Яковенко Л.В. Физические механизмы функционирования биологических мембран. М.: Изд-во МГУ, 1987.
6. Шноль С.Э. Физико-химические факторы биологической эволюции. М.: Наука, 1979.

* * *

Александр Александрович Болдырев, доктор биологических наук, профессор Международного биотехнологического центра при Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов — мембранные ферменты и их чувствительность к свободнорадикальному повреждению. Автор более 300 научных публикаций, в том числе четырех книг и двух учебных пособий.