

Т. Г. АМБАРЦУМЯН, В. С. МАРКИН

ДИФФУЗИОННАЯ МОДЕЛЬ НАТРИЕВОГО НАСОСА

Предлагается диффузионная модель натриевого насоса, основанная на известных экспериментальных данных. Показана последовательность ступеней работы его, путь, по которому осуществляется реверсия, а также роль как АТФ, так и АДФ и неорганического фосфата в работе насоса.

Натриевый насос представляет собой транспортную систему, обеспечивающую перенос ионов натрия из клетки наружу в обмен на ионы калия среды. Перенос ионов по этой транспортной системе связан с использованием энергии макроэргической связи АТФ [2]. Работу насоса, осуществляющую такой натрий-калиевый обмен, назовем прямой работой насоса.

Было показано, что на многих типах клеток гидролиз одной молекулы АТФ сопряжен с выведением трех ионов натрия и поглощением двух ионов калия [8]. Экспериментально было показано, что гидролиз АТФ осуществляется в два этапа: в ходе первого, стимулированного ионами натрия и магния, образуется фосфорилированный промежуточный переносчик, а в ходе второго происходит дефосфорилирование, стимулированное ионами калия [1].

В последние годы Глинном с соавторами было показано, что в определенных условиях натриевый насос может работать также и в обратном направлении, обменивая ионы калия клетки на ионы натрия среды [4]. Такое изменение направления работы насоса было названо реверсией натриевого насоса. Если при прямой работе насоса АТФ расходуется, то, как было экспериментально показано [5], при обратной работе насоса АТФ синтезируется из внутриклеточного АДФ и неорганического фосфата.

Кроме того, известно, что одновременно с натрий-калиевым и калий-натриевым обменами осуществляется натрий-натриевый обмен, в результате которого ионы натрия клетки обмениваются на ионы натрия среды, и калий-калиевый обмен, который приводит к обмену ионов калия клетки на ионы калия среды [6].

В настоящее время существует большое количество моделей активного транспорта. Но до сих пор не были рассмотрены модели, охватывающие все известные типы обменов, происходящих между клеткой и средой.

ный цикл, включающий АТФ-азную реакцию и перенос ионов, заканчивается. В модели предполагается, что на ступени 2, где происходит ионообменная реакция, реализуется энергия макроэргической связи [8], поэтому в комплексе $P-E-XK_2$ символ $\sim$ заменен на $-$.

Все указанные реакции предполагаются обратимыми. Такое предположение делает понятной возможность натрий-натриевого, калий-калиевого и калий-натриевого обменов. $Na:Na$ обмен может происходить так: в состоянии 2 на место сброшенного в среду иона натрия на подвижный переносчик X может сесть ион натрия из среды, и образовавшийся комплекс может вернуться в клетку ($2 \rightarrow 1$).

Предположим, что в системе содержится в достаточно большой концентрации неорганический фосфат, а концентрация АТФ незначительна. Тогда равновесие в цепи последовательных реакций сдвигается вправо, и насос работает в обратном направлении: сначала на ступени 4 к промежуточному соединению $E-X$ присоединяется два иона калия и затем неорганический фосфат. Образовавшийся комплекс диффундирует к наружной границе мембраны, и калий сбрасывается в среду. На его место может сесть либо ион калия из среды—тогда комплекс по пути $2 \rightarrow 3 \rightarrow 4$ вернется к внутренней границе ($K:K$ обмен),—либо ион натрия среды, который по пути $2 \rightarrow 1$ достигает клетки. Так осуществляется $K:Na$ обмен. При прямой работе насоса энергия АТФ расходуется на ионообменной ступени (2). Естественно считать, что при обратной работе его на той же ступени энергия накапливается, т. е. неорганический фосфат превращается в макроэргический.

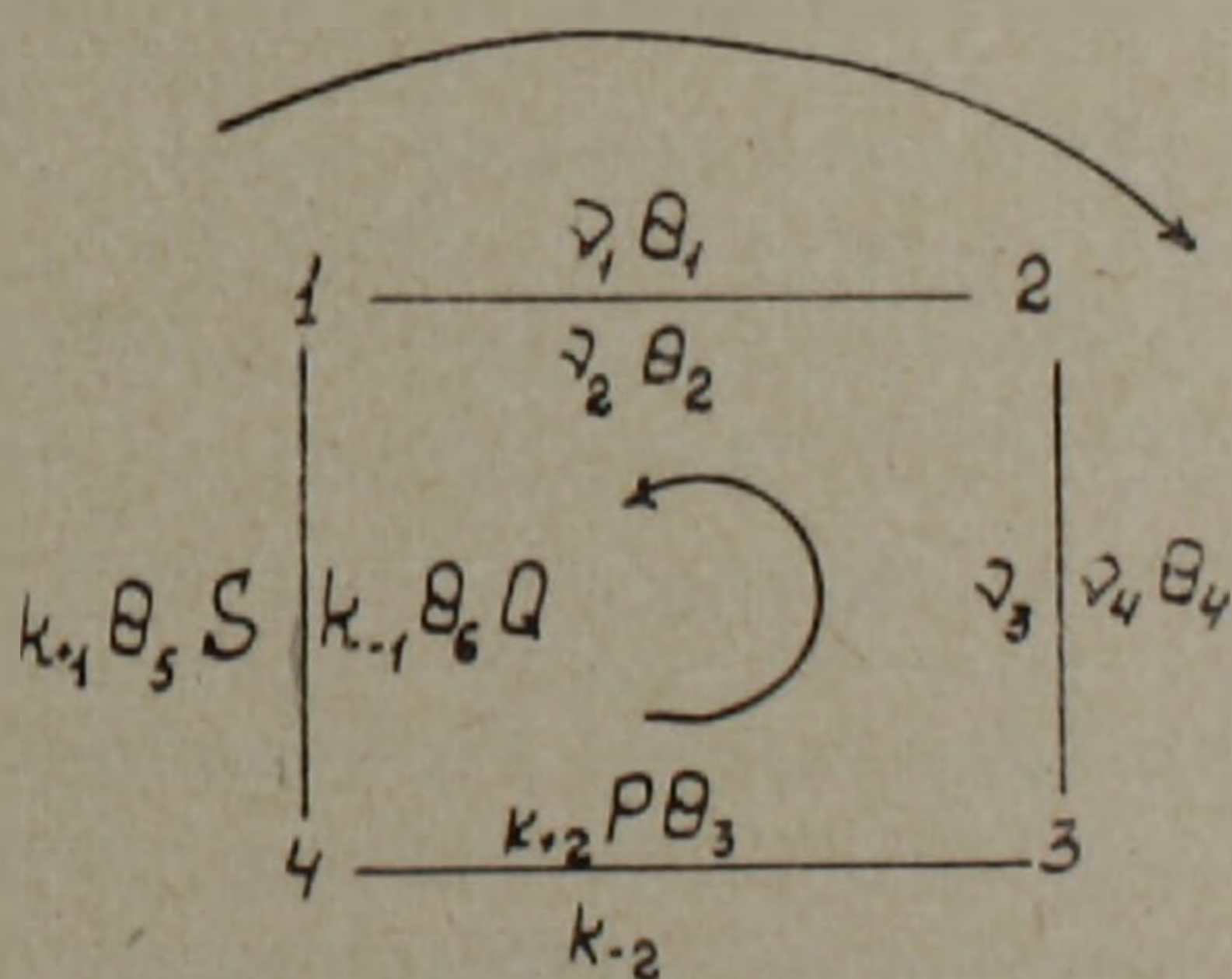


Рис. 2. Диаграмма состояний, составленная по методу Хилла. S —концентрация АТФ в системе; Q —концентрация АДФ; $\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_4, \theta_5, \theta_6$ соответственно доля вещества: $P \sim E-XNa_2$ —в состоянии 1, XNa_2 —в состоянии 2, $E-XK_2$ и $E-X$ —в состоянии 4 и $P \sim E-X$ —в состоянии 3; стрелки указывают направления обходов.

Таким образом, в предлагаемой системе возникают два типа потоков: это входящие в клетку и выходящие из клетки потоки ионов натрия и калия. Все расчеты стационарных потоков проводились с помощью диаграммной техники, предложенной Хиллом [7], но в несколько измененном варианте: в качестве состояний в нашей диаграмме рассматриваются суммы состояний, обведенных пунктиром. Поэтому нами вводятся величины θ_i , которые обозначают долю концевых состояний в каж-

дой сумме. Тогда модели соответствует диаграмма, изображенная на рис. 2.

Каждый из существующих потоков в общем случае может быть результатом двух различных обменов. Обозначая долю потока натрия, идущего в обмен на натрий, $J_{Na:Na}$, а в обмен на калий, — $J_{Na:K}$, и аналогично обозначая потоки калия, можно записать:

$$\begin{aligned} J_{Na \text{ вых}} &= J_{Na:Na} + J_{Na:K}, \\ J_{Na \text{ вх}} &= J_{Na:Na} + J_{K:Na}, \\ J_{K \text{ вых}} &= J_{K:K} + J_{K:Na}, \\ J_{K \text{ вх}} &= J_{K:K} + J_{Na:K}. \end{aligned} \quad (1)$$

Суммарный натриевый поток, возникающий в системе, равен $J_{Na \text{ вых}} - J_{Na \text{ вх}}$. С помощью диаграммы этот поток определяется так:

$$J_{Na \text{ вых}} - J_{Na \text{ вх}} = \left[\begin{array}{c} \rightarrow \\ \leftarrow \end{array} \right] - \left[\begin{array}{c} \leftarrow \\ \rightarrow \end{array} \right] = \frac{X_t}{D} \left[\frac{Na_i^3 \cdot K_0^2}{Na_0^3 \cdot K_i^2} \cdot \frac{S}{PQ} \eta - 1 \right]. \quad (2)$$

Здесь D представляет собой сумму всех направленных диаграмм:

$$\begin{aligned} D = & \nu_2 \nu_3 \Theta_2 (\Theta_3 k_{+1} S + \Theta_6 k_{-1} Q) + \Theta_5 k_{+1} k_{-2} S (\nu_4 \Theta_3 + \nu_2 \Theta_2 + \nu_1 \Theta_1) + \\ & + \nu_1 \nu_3 \Theta_2 (k_{-2} \Theta_4 P + k_{+1} \Theta_5 S) + \nu_3 k_{+2} \Theta_4 P (k_{-1} \Theta_6 Q + \nu_2 \Theta_2) + \\ & + \nu_1 \nu_4 \Theta_1 \Theta_3 (k_{+1} \Theta_5 S + k_{-2}) + k_{+2} \nu_4 \Theta_3 \Theta_4 P (k_{-1} \Theta_6 Q + \nu_1 \Theta_1) + \\ & + k_{-1} k_{-2} \Theta_6 Q (\nu_4 \Theta_3 + \nu_2 \Theta_2) + k_{-1} k_{+2} \nu_2 \Theta_2 \Theta_4 \Theta_6 P Q. \end{aligned}$$

Полученная формула (2) показывает, что движущей силой работы насоса является не просто АТФ, а отношение $\frac{АТФ}{АДФ \cdot P_H}$. Кроме того, формула

(2) делает наглядной обратимость насоса. Действительно, можно построить кривую зависимости $J_{Na \text{ вых}} - J_{Na \text{ вх}}$ от концентрационного от-

ношения $\frac{АТФ}{АДФ \cdot P_H}$. На основании формулы (1) $J_{Na \text{ вых}} - J_{Na \text{ вх}} = J_{Na:K} -$

$J_{K:Na}$. Тогда на кривой рис. 3 точка 0 — точка обращения насоса: правее этой точки преимущественно осуществляется натрий-кальцевый обмен (прямая работа насоса), левее — калий-натриевый обмен (обратная работа насоса). Точка 0 определяет некоторое равновесное состояние, когда гидролиз и синтез АТФ равны друг другу. Положение точки равновесия насоса зависит от концентрации катионов. При увеличении внутриклеточной концентрации натрия и наружной концентрации калия она смещается влево, а при увеличении наружной концентрации натрия и внутриклеточной концентрации калия — вправо.

Аналитические выражения, полученные для стационарных потоков, протекающих через мембрану, также показывают, что не только АТФ, но и АДФ и неорганический фосфат играют важную роль в работе натриевого насоса.

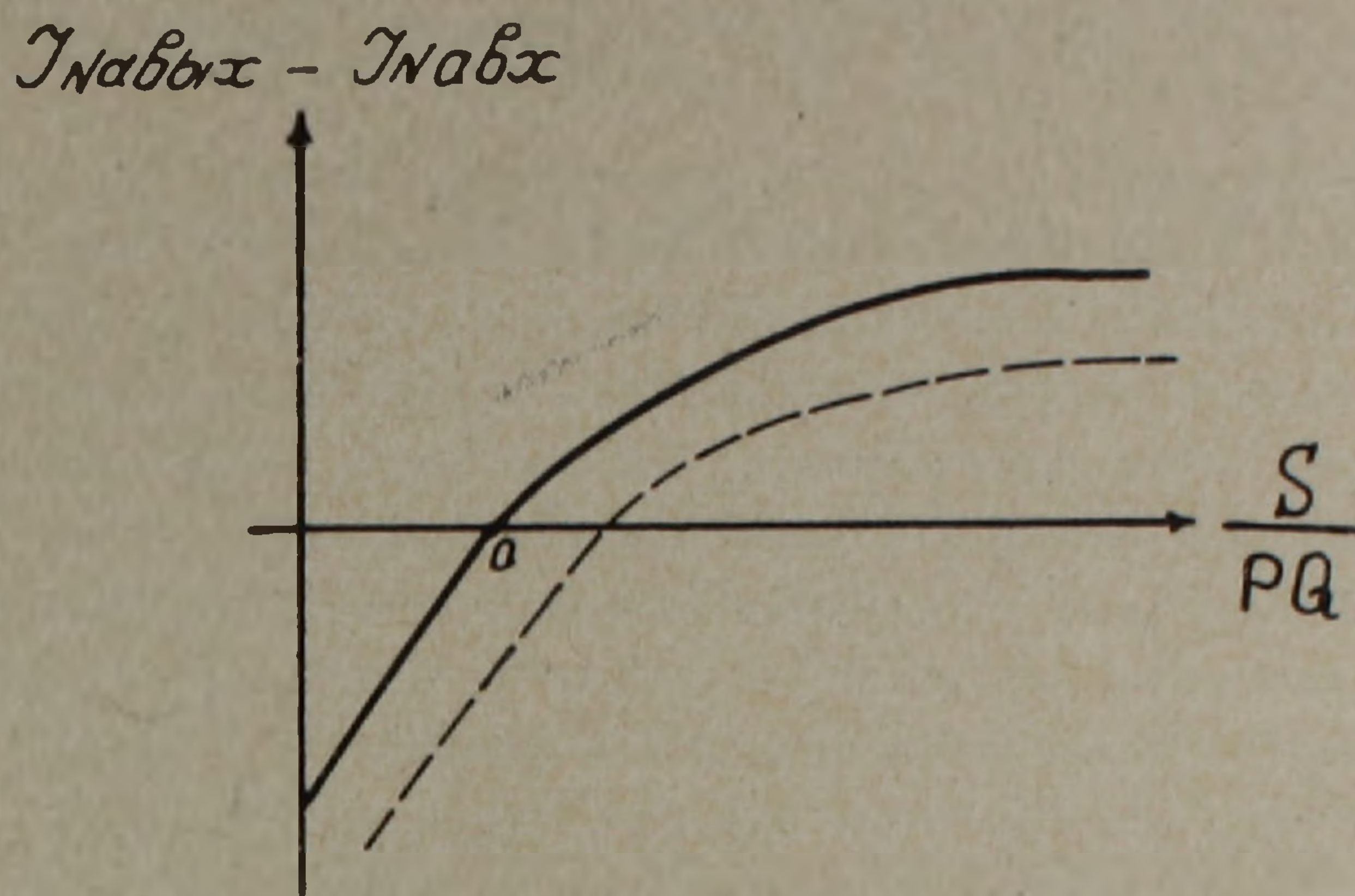


Рис. 3. Объяснение в тексте.

$$J_{Na_{вых}} = \frac{X_1}{D} Na_i^3 [a Na_0^3 (K_i^2 P + b S) + c S (K_i^2 d + Na_0^3 g)], \quad (3)$$

$$J_{Na_{вх}} = \frac{X_1}{D} Na_0^3 [a_1 K_i^2 P (Na_i^3 + b_1 Q) + d_1 S Na_i^3]. \quad (4)$$

Как видно из формул (3) и (4), входящие и выходящие потоки натрия и калия являются функциями не только АТФ, но и АДФ и неорганического фосфата. Этот результат не случаен, он прямо вытекает из предположения о возможности работы насоса как в прямом, так и в обратном направлениях. Рассмотрим эти потоки в различных условиях. Как видно из формулы (3), в отсутствие неорганического фосфата поток натрия в клетку не исчезает. Предлагаемая модель объясняет существование этого потока следующим образом: если в системе нет неорганического фосфата, насос может работать только в прямом направлении, значит ион натрия, выходящий из клетки, может обмениваться на ионы калия или натрия среды. Если произошел обмен двумя ионами натрия, то далее по каналу $2 \rightarrow 1$ натрий, пришедший из клетки, будет выброшен в среду. Таким образом, поток натрия в клетку в отсутствие неорганического фосфата — это результат натрий-натриевого обмена.

В отсутствие же АТФ и АДФ, как следует из формулы (4), должен быть некоторый поток натрия из клетки. Действительно, в таких условиях насос может работать лишь в обратном направлении, т. е. система последовательно проходит состояния $4 \rightarrow 3 \rightarrow 2 \rightarrow 1$. В состоянии 1 на место пришедшего иона натрия с некоторой вероятностью может сесть ион натрия среды, который по каналу $1 \rightarrow 2$ попадет в среду.

Для сравнения приведем аналитические выражения входящих и выходящих потоков калия:

$$J_{K_{вх}} = \frac{X_1}{D} K_0^2 a_2 [K_i^2 P \cdot b_2 (Na_i^3 + c_2 Q) + d_2 Na_i^3 S], \quad (5)$$

$$J_{K \text{ вых}} = \frac{X_1}{D} K_1^2 P a_3 [K_0^2 Na_1^3 + b_3 K_0^2 Q + c_3 Na_0^3 Q]. \quad (6)$$

Из выражения (5) видно, что в отсутствие неорганического фосфата нет потока калия из клетки. Это понятно, так как, согласно модели, при обратной работе насоса сначала происходит присоединение ионов калия, а затем фосфата, и если фосфат в системе отсутствует, то насос не может работать в обратном направлении, так как цепь последовательных ступеней реакций разорвана. Из формулы (6) следует, что поток калия из клетки будет в системе, если даже неорганический фосфат отсутствует, так как в таких условиях он осуществляется благодаря прямой работе насоса, в данном случае благодаря Na:K обмену.

Отметим, что исследование зависимости потока натрия в клетку показало, что при определенном подборе констант кривая зависимости этого потока от внутриклеточной концентрации натрия может иметь максимальную точку, что согласуется с экспериментальными данными Глины [9].

Таким образом, предлагаемая модель показывает последовательность ступеней работы натриевого насоса (путь, по которому осуществляется реверсия), а также делает наглядной роль не только АТФ, но также и АДФ и неорганического фосфата.

Ереванский физический институт,
Институт электрохимии АН СССР

Поступило 30.III 1972 г.

Տ. Գ. ՀԱՄԲԱՐՑՈՒՄՅԱՆ, Վ. Ս. ՄԱՐԿԻՆ

ՆԱՏՐՈՒՄԱԿԱՆ ՄԵՈՅԻ ԳԵՖՈՒԶԻՈՆ ՄՈԴԵԼԸ

Ա. մ. փ. ո. փ. ո. ի. մ.

Առաջարկված է նատրումական միոցի դիֆուզիոն մոդելը, որը հիմնված է հաշտնի էքսպերիմենտալ տվյալների վրա: Ցույց է տրված միոցի աշխատանքի հաջորդական աստիճանները, ԱՏՖ-ի, ԱԴՖ-ի և անօրգանական ֆոսֆատի դերը միոցի աշխատանքում և միոցի հակառակ աշխատանքի ուղին:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ahmed K, Judah J D. Biochem et biophys acta 104, 112 1965
2. Caldwell P. C., Hodgkin A. L., Keynes R. D., Shaw T. L., J. physiol., 152, 561, 1960.
3. Caldwell P. C. Physiol Revs, 48, 1, 1968.
4. Garrahan L. M., Glynn P. J J. Physiol., 192, 237, 1967.
5. Glynn P. J., Lew V. L. J. Gen. Physiol. 54, 289s, 1969.
6. Glynn P. J. Lew V. L., J. Gen Physiol 54, 289 1969.
7. Hill T., J. theoretical biology 10., 442, 1966.
8. Sen A. K. Post R. L., J. Biol. Chem., 239, 345, 1964.
9. Stone. Biochem et biophys. acta, 150. 578, 1968.