



Na⁺, K⁺-АТРаза: СТРУКТУРНАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ В МОЗГУ (СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ)

КОДЕНЦОВА В. М., ГУЛИДОВА Г. П.

ВНЦ психического здоровья АМН СССР, Институт прикладной молекулярной биологии МЗ СССР, Москва

Представленные в литературе данные свидетельствуют о молекулярной гетерогенности Na⁺, K⁺-АТРаза. Два изозима этого фермента (α и $\alpha(+)$) различаются как структурно (по величине M_r , α -субъединицы), так и функционально (по чувствительности к сердечным гликозидам, пиритамину, эритрозину В). Количественное соотношение α - и $\alpha(+)$ -изоформ Na⁺, K⁺-АТРаза варьирует в зависимости от органа и вида животного и изменяется в ходе онтогенеза. Наибольшим содержанием $\alpha(+)$ -изозима характеризуется нервная ткань, наименьшим — почки. Обсуждается возможная роль изозимов Na⁺, K⁺-АТРаза в проявлении несимметричной чувствительности фермента разных органов и видов животных к действию сердечных гликозидов.

Na⁺, K⁺-активируемая Mg²⁺-зависимая аденозинтрифосфатаза (АТРаза) является интегральным белком-ферментом плазматических мембран животных клеток, основная функция которого состоит в поддержании трансмембранного градиента Na⁺ и K⁺ за счет гидролиза АТР. Гидролиз одной молекулы АТР сопровождается переносом 3 ионов натрия наружу и 2 ионов калия внутрь клетки. Характерной особенностью фермента независимо от источника выделения является его способность использовать в качестве субстрата, помимо природных нуклеозидтрифосфатов, целый ряд других соединений (ацетилфосфат, карбамилфосфат, динитрофенилфосфат и др.), причем лишь гидролиз АТР и СТР не подчиняется обычно кинетике Михаэлиса-Ментен [1, 2].

Физиологическая роль и количественное содержание Na⁺, K⁺-АТРаза определяется типом ткани. Наибольшее ее содержание установлено в возбудимых тканях (нервная, мышечная, электрический орган) и экскреторных органах (мозговой слой почек, солевые железы). В функционировании нервной клетки Na⁺, K⁺-АТРаза играет особенно важную роль, участвуя в поддержании и восстановлении трансмембранного потенциала, механизмах возникновения и проведения нервного импульса

[3], а также освобождения и захвата медиаторов и некоторых субстратов нервными окончаниями [4—6]. Максимальная активность этого фермента обнаруживается в нервных окончаниях, в частности в синаптических мембранах [7].

Молекула Na^+ , K^+ -АТФазы состоит из двух субъединиц: α -с M_r 90—130 кД и β (сиалогликопротеид)—с M_r 35—57 кД, входящих в состав фермента в эквимольных количествах. α -Субъединица является каталитической, содержит нуклеотидсвязывающий (АТФ-гидролизующий) центр, участки связывания ионов-активаторов Na^+ и K^+ и участок связывания специфических ингибиторов фермента, в частности убаина [1, 8, 9]. Антитела к гликопротеиду ингибируют активность Na^+ , K^+ -АТФазы, что свидетельствует о важной роли этой субъединицы в активности фермента [8, 9].

Исследование молекулярной организации Na^+ , K^+ -АТФазы показало, что ферменты целого ряда эволюционно различных животных характеризуются близкой величиной M_r . Так, α -субъединица Na^+ , K^+ -АТФазы мозга и линз цыпленка, ректальной железы золотой рыбки, электрического органа угря, почек собаки имеет величину M_r около 97 кД и содержит гомологичные участки [10]. Ферменты, выделенные из почек крысы и собаки, также существенно не различаются по величине M_r [11]. N-концевой аминокислотой в β -субъединице фермента тканей собаки, акулы, угря является аланин [12].

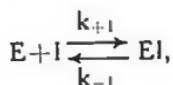
Многолетние исследования свойств Na^+ , K^+ -АТФазы, выделенной из разных органов и видов животных, показали, что некоторые кинетические свойства фермента после очистки мало зависят от источника его получения. Установлено, что ферменты почек крысы и собаки не отличаются по кинетическим параметрам АТФазной реакции (значения $K_{0.5}$ для АТФ, Na^+ и K^+ совпадают), обладают одинаковой чувствительностью к ванадату и олигомицину [11]. Na^+ , K^+ -АТФаза, выделенная из почек и мозга крыс, также не имеет различий по кинетическим параметрам активации фермента Na^+ , K^+ , Mg^{2+} и АТФ [13]. Зависимость активности от соотношения Na^+/K^+ для фермента почек, мозга, электрического органа, солевых желез, эритроцитов одинакова и максимальна при соотношении Na^+/K^+ (130:20 мМ) [14]. рН-Зависимость активности фермента представляет собой типичную колоколообразную кривую с максимумом при рН 7,4 [14]. Не отличается по свойствам от классического фермента и недавно описанная Na^+ , K^+ -АТФаза надпочечников крысы [15].

Таким образом, препараты Na^+ , K^+ -АТФазы, выделенные из различных органов и видов животных, обнаруживают по ряду признаков удивительное сходство свойств, что и послужило поводом к тому, что в литературе укоренилось мнение о принципиальной однородности Na^+ , K^+ -АТФаз [12]. Однако в последние годы благодаря развитию новых методов исследования накопился целый ряд экспериментальных данных, указывающих как на структурную, так и на функциональную гетерогенность этого фермента.

Чувствительность Na^+ , K^+ -АТФазы к специфическим ингибиторам.

Связывание одной молекулы специфического ингибитора Na^+ , K^+ -АТФазы—уабанна (строфантин G) с одной молекулой фермента приводит к полному ингибированию всех ее активностей (Na^+ , K^+ -АТФазной, K^+ -фосфатазной и способности переносить одновалентные катионы) [8].

Уабанн взаимодействует с ферментом по типу псевдообратимого ингибитора, образуя с Na^+ , K^+ -АТФазой прочный комплекс в соответствии с кинетической схемой:



где k_{+1} —константа скорости ассоциации, k_{-1} —константа скорости диссоциации комплекса.

Вскоре после открытия Na^+ , K^+ -АТФазы было обнаружено, что фермент, выделенный из одноименных органов (мозг, сердце, почки) разных видов животных, характеризуется неодинаковой чувствительностью к действию уабанна и некоторых других специфических ингибиторов (сердечные гликозиды).

Чувствительность Na^+ , K^+ -АТФазной активности мозга и других органов к уабанну убывает в следующем ряду животных: кошка > собака > свинья > овца > морская свинка > кролик > лягушка > мышь > крыса [16—18]. К разряду гликозидчувствительных объектов относятся также человек и бык [8, 19, 20]. При этом интересно отметить, что для большинства видов животных (собака, морская свинка, кошка) скорости ассоциации (k_{+1} уабанна с Na^+ , K^+ -АТФазой практически не различаются [21—23], и наблюдаемые различия в величинах K_d комплекса фермент-уабанн являются следствием существенных различий в константах скорости диссоциации (k_{-1}).

Наряду с различиями в межвидовой чувствительности Na^+ , K^+ -АТФазы к уабанну в литературе отмечаются и тканевые различия. В ряде работ обнаружена более высокая чувствительность фермента мозга к этому ингибитору по сравнению с ферментом других органов [13, 21, 24]. Так, в работе Угауата, Накао [13] обнаружено, что концентрация уабанна, вызывающая 50%-ное торможение Na^+ , K^+ -АТФазы мозга крысы более чем в 100 раз ниже таковой для ферментов других органов. Однако есть данные, не согласующиеся с этими результатами [23, 25]. Как показано в работе Choi, Акега [25], эти противоречия в значительной мере могут объясняться способом и степенью очистки фермента, в процессе которой средство фермента к уабанну может измениться на 1—2 порядка [26].

Чувствительность Na^+ , K^+ -АТФазы к уабанну является наследственным признаком. Подтверждением этому может служить обнаружение линий мутантных клеток млекопитающих крысы [27] и клеток яичника китайского хомячка [28], резистентных к уабанну.

Какие же факторы определяют неодинаковую чувствительность Na^+ , K^+ -АТФазной активности к сердечным гликозидам? Прежде всего, на сродство уабанна к Na^+ , K^+ -АТФазе могут оказывать влияние компоненты мембранного окружения фермента (как белковые, так и липидные). В литературе последних лет описаны факты, подтверждающие это предположение. Так, Мирсалиховой [29] было показано, что при обработке препаратов Na^+ , K^+ -АТФазы почек свиньи фосфолипазой А (гидролизующей фосфатидилсерин, необходимый для функционирования Na^+ , K^+ -АТФазы) чувствительность фермента к олиторизиду уменьшалась в 7 раз. К аналогичному уменьшению сродства в 5 раз к этому сердечному гликозиду приводило встраивание фермента в лецитиновые липосомы [30].

Интересным подходом к выяснению роли липидов в модуляции ингибирующего действия сердечных гликозидов является сравнение чувствительности Na^+ , K^+ -АТФазы к уабанну после перекрестной реактивации липидами, экстрагированными из тех же источников. Оказалось, что величины I_{50} для фермента сердца крысы (75—93 мкМ) и сердца собаки (0,1—0,3 мкМ) не зависели от того, липиды какого объекта были использованы для реактивации фермента [31]. В то же время Na^+ , K^+ -АТФаза мозга быка, встроена в липосомы из липидов аксона краба *Cancer magister*, теряла чувствительность к уабанну. Величина I_{50} увеличивалась с $3,1 \cdot 10^{-7}$ до $1,4 \cdot 10^{-6}$ М. И наоборот, сродство к уабанну возрастало, приближаясь к таковому фермента мозга быка, при встраивании фермента аксона краба в липиды мозга быка [32]. Значение I_{50} уменьшалось с $1,5 \cdot 10^{-4}$ до $5,4 \cdot 10^{-5}$ М. На основании существенных различий в липидном составе двух мембранных препаратов нервной ткани предполагается, что основная роль в модуляции чувствительности к уабанну определяется длиной и степенью насыщенности остатка жирных кислот мембранных фосфолипидов.

В литературе последних лет появились данные [25, 33], указывающие на участие в рецепции сердечных гликозидов белков мембранного окружения Na^+ , K^+ -АТФазы. Экстракция фосфолипиднесодержащих белков из мембран тений плазмоцитомы MOPS 173 приводила к 300-кратному увеличению чувствительности Na^+ , K^+ -АТФазы к уабанну. Добавление экстрагированных белков возвращало этот параметр к исходному уровню [33]. Аналогичное увеличение сродства фермента почек лошади к уабанну в ходе очистки обнаружили и другие авторы [25]. При этом одинаковая степень очистки фермента разных органов сопровождается неодинаковым изменением чувствительности к уабанну. Например, 28-кратная очистка фермента сердца крысы сопровождалась 5-кратным, а сердца кошки—10—90-кратным повышением чувствительности к уабанну [26].

Характер чувствительности фермента к уабанну зависит также от проявления функциональных связей в олигомере Na^+ , K^+ -АТФазы. К такому заключению пришли Болдырев и соавт. [34], обнаружившие, что чувствительность фермента солевых желез уток уменьшается на

порядок при переходе от «кооперативного» субстрата АТР-к «некооперативно» гидролизуемому ИТР. Аналогичное уменьшение чувствительности фермента сердца крысы в 100 раз наблюдалось при переходе от АТР к *p*-нитрофенилфосфату—«некооперативно» гидролизуемому субстрату Na^+ , K^+ -АТРазы [35].

И наконец, неодинаковая чувствительность Na^+ , K^+ -АТРазы из разных источников к ингибиторам строфантинидинового ряда может определяться существованием молекулярных форм этого фермента, обладающих разным сродством к убаину. Такое предположение было высказано на основании экспериментов по связыванию [^3H]убаина с мембранными препаратами из сердца крысы, лошади, быка, морской свинки, в которых было обнаружено два типа участков связывания: с высоким и низким сродством [36—42]. Высокочувствительный фермент, по данным некоторых авторов, составляет от 3% в препаратах предсердия [38] до 10—30% в препаратах желудочка и целого сердца крысы [30, 38, 43]. Два типа участков связывания убаина, различающихся по сродству, обнаружены и в мембранных препаратах мозга животных [22, 44]. На существование различных молекулярных форм могут также указывать выявляемые рядом авторов антигенные различия между ферментами мозга и почек [13, 45, 46].

Структурная гетерогенность Na^+ , K^+ -АТРазы, выделенной из разных источников.

Начало интенсивному исследованию изоформ Na^+ , K^+ -АТРазы положила работа Sweadner [47], в которой в препаратах Na^+ , K^+ -АТРазы мозга методом электрофореза в ПААГ в присутствии ДДС- Na был обнаружен дублет полос α -субъединиц, различающихся по кажущимся величинам M_r у разных видов животных (омар, лягушка, лошадь, собака, крыса, мышь, обезьяна) и человека на 2—10 кД [47—52]. При окрашивании белка красителем Кумасси этот метод позволяет определять от 0,2 до 2 мкг белка на полосе [48]. Более тяжелая α -субъединица была обозначена $\alpha(+)$. Электрофоретически более различимы α - и $\alpha(+)$ -субъединицы фермента мозга быка и собаки, α - и $\alpha(+)$ -субъединицы ферментов мозга крысы и мыши различаются очень слабо [47]. Методом пептидных карт установлена большая гомология между α - и $\alpha(+)$ -субъединицами Na^+ , K^+ -АТРазы мозга и почек лошади [47]. Показано, что обе субъединицы мозга и почек крысы и собаки имеют общие антигенные детерминанты [49]. По данным Sweadner, Gilkeson [53], α - и $\alpha(+)$ -субъединицы имеют специфические антигенные детерминанты, а пептидные фрагменты этих субъединиц различаются по иммунореактивности. $\alpha(+)$ -Субъединица по сравнению с α -субъединицей более устойчива к перевариванию трипсином, содержит больше реактивных SH-групп, доступных для взаимодействия с *N*-этилмаленимидом. Обнаружено, что в $\alpha(+)$ -субъединицу включается 4,3 моль *N*-этилмаленимида, тогда как в α -субъединицу 2,4 моль/мг белка.

Другим методом выявления двух изоформ Na^+ , K^+ -АТРазы является автораддиография: в каталитическую субъединицу фермента вво-

дят радиоактивную метку и после электрофоретического разделения фиксируют в геле автордиографическим способом. Для мечения активного центра фермента используют либо образованный в ходе гидролиза [γ - ^{32}P] АТФ фосфорилированный интермеднат [47], либо проводят фотоаффинное мечение участка связывания сердечных гликозидов (например, с помощью фоточувствительного производного цимарина— ^{125}I йодазидоцимарина) [50].

Третий метод основан на использовании избирательного ингибитора $\alpha(+)$ -формы Na^+ , K^+ -АТФазы—пиритиамина.

Из литературных данных видно, что первый метод является наименее чувствительным. Например, при окрашивании Na^+ , K^+ -АТФазы электрического органа *Electrophorus electricus* красителем Кумасси полоса белка, соответствующая $\alpha(+)$ -субъединице, не видима [47], однако методом автордиографии обнаруживаются две полосы радиоактивности, соответствующие положению α - и $\alpha(+)$ -субъединиц фермента [50].

Вследствии при использовании более чувствительных методов исследования изоэзмы Na^+ , K^+ -АТФазы были обнаружены не только в мозгу животных и человека [47—51], но и в адипоцитах крысы [55], сердце собаки [56], личинке морской креветки [57]. ЦНС омара [47] и в небольшом количестве—в пластинке электрического органа угря [50], причем кажущиеся величины M_r α - и $\alpha(+)$ -субъединиц фермента ЦНС омара не отличаются от таковых из мозга крысы.

Для α - и $\alpha(+)$ -форм Na^+ , K^+ -АТФазы обнаружено четкое тканевое и субклеточное распределение. По данным Sweadner [47], очищенные мембраны аксолеммы белого вещества мозга крыс содержат только $\alpha(+)$ -форму, тогда как глиа только α -форму; в то же время синапсомы коры больших полушарий мозга содержат обе формы фермента. Однако такое четкое распределение α - и $\alpha(+)$ -субъединиц в нейрональной ткани и глиа ставится под сомнение другими авторами [49]. В связи с этим любопытно отметить, что мозг насекомого *Manduca sexta* содержит одну форму α -субъединицы Na^+ , K^+ -АТФазы с промежуточной величиной M_r [49].

Количественное соотношение α - и $\alpha(+)$ -форм Na^+ , K^+ -АТФазы варьирует в зависимости от органа и вида животного и является наследственным признаком [50]. Наибольшая относительная величина $\alpha(+)$: α характерна для мозга. Так, в микросомном препарате мозга взрослых крыс $\alpha(+)$ -форма составляет 77% всей Na^+ , K^+ -АТФазы [56], в мозгу лошади—57% [47], сердце собаки—лишь 37% [56] и не обнаруживается или выявляется в ничтожно малой концентрации в почках животных [47, 56]. Инкубация гомогената ткани мозга крысы в течение 1 ч при 37°, а также трипсинолиз и химотрипсинолиз в мягких условиях не приводят к изменениям относительных количеств двух форм фермента и переходу $\alpha(+)$ -формы субъединицы в α -форму [47].

Соотношение двух изоформ Na^+ , K^+ -АТФазы изменяется в ходе онтогенеза: Na^+ , K^+ -АТФаза мозга 13—14-дневного плода крыс пред-

ставлена только α -формой [48, 56]. Появление $\alpha(+)$ -формы предшествует миелинизации и синаптогенезу [48], и уже у 18-дневного плода обнаруживаются обе формы фермента [48, 56]. Соотношение $\alpha(+)$: α увеличивается в процессе роста крысы, достигая максимального значения у 10-дневного животного [48]. Разные области мозга взрослых крыс характеризуются неодинаковым соотношением α и $\alpha(+)$ -форм субъединицы Na^+ , K^+ -АТФазы. Максимальные различия в содержании $\alpha(+)$ - и α -формы (10:1) обнаруживаются в стволе головного мозга [48], в некоторых других областях мозга (ретины, кора головного мозга, мозжечок) обе формы фермента представлены в эквивалентных количествах [48].

Надо отметить, что в препаратах сарколеммы сердца спонтанно гипертонических крыс пропорции двух форм фермента не изменяются по сравнению с беспородными крысами, хотя при этом наблюдаются существенные различия по величине Na^+ , K^+ -АТФазной активности и количеству участков связывания уабаина [58, 59].

С помощью [^{35}S] меченого метионина показано, что, хотя в клетках ретиального ганглия две молекулярные формы фермента синтезируются приблизительно в равных количествах [60], в нервные окончания зрительного нерва транспортируется по аксону преимущественно $\alpha(+)$ -форма и лишь в небольших количествах α ; в дальнейшем пропорции двух форм фермента не изменяются во времени [60].

Остановившись на молекулярных формах Na^+ , K^+ -АТФазы, различающихся по α -субъединице, отметим, что методом ИЭФ препарата Na^+ , K^+ -АТФазы из электрического органа угря *Electrophorus electricus* [50, 61] с ПААГ обнаружено 9—10 белковых полос β -субъединицы со значениями pI в диапазоне 4, 3—5, 6. Установлено, что такая микрогетерогенность обусловлена различиями в количестве остатков сиаловой кислоты гликопротеида. Предполагается, что обнаруженные различия являются результатом посттрансляционной модификации олигосахарида.

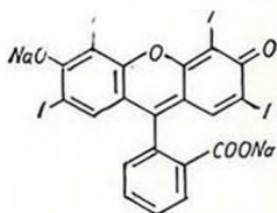
Функциональная гетерогенность молекулярных форм Na^+ , K^+ -АТФазы: чувствительность к ингибиторам.

Существенно, что разные изоэнзимные формы Na^+ , K^+ -АТФазы отличаются по чувствительности к действию сердечных гликозидов и некоторых других ингибиторов. Чувствительность $\alpha(+)$ -формы фермента к сердечным гликозидам существенно выше, чем α -формы. Так, сродство к уабаину $\alpha(+)$ и α -изоформ фермента из мозга крысы различается на порядок, а к строфантиндину—на 3 порядка (значения I_{50} составляют $2 \cdot 10^{-7}$ и $2 \cdot 10^{-4}$ М) [47, 53, 54, 62].

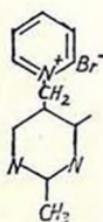
По чувствительности к уабаину Na^+ , K^+ -АТФазную активность микросомной фракции мозга крысы в онтогенезе, по данным Matsuda и соавт. [56], можно подразделить на 3 группы: менее чувствительная ($I_{50} = 3 \cdot 10^{-5}$ М, фермент 14-дневного плода), с промежуточной чувствительностью ($I_{50} = 1 \cdot 10^{-5}$ М, фермент 18-дневного плода) и высокочувствительная (постнатальная Na^+ , K^+ -АТФаза). Эти изменения соответствуют изменениям изоэнзимного состава Na^+ , K^+ -АТФазы мозга в

ходе онтогенеза: наличием у 14-дневного плода только α -формы фермента и появлению $\alpha(+)$ -формы у 18-дневного плода. Возможно, изменениями состава молекулярных форм объясняются и возрастные изменения чувствительности к уабаину фермента сердца: Na^+ , K^+ -АТРаза сердца новорожденных крыс ($I_{50}=46$ мкМ) в 5 раз более чувствительна к уабаину по сравнению с ферментом взрослых животных ($I_{50}=224$ мкМ) [26].

Дальнейшие исследования молекулярных форм Na^+ , K^+ -АТРаза выявили помимо различий в чувствительности к уабаину и другие функциональные различия α - и $\alpha(+)$ -форм фермента. В частности, были обнаружены избирательные специфические ингибиторы $\alpha(+)$ -формы Na^+ , K^+ -АТРаза — пиритиамины (1-[(4-амино-2-метил)-5-пиримидилметил]-2-метил-3-(β -гидроксиэтил-пиридиниум) бромид [56, 63] и эритрозин В (тетрайодфлуоресцеин) [64, 65].



эритрозин



пиритиамины

Пиритиамины являются антиметаболитами тиамина, который обнаруживается в мембранах синапсов в концентрации 10 нмоль/мг белка; помимо его способности выступать в качестве кофактора ферментов, он играет специфическую роль в нервной ткани [63]. Пиритиамины ковалентно (отсутствие восстановления активности после переосаждения фермента и электрофореза) присоединяется к $\alpha(+)$ -изоформе Na^+ , K^+ -АТРаза, вызывая необратимое ингибирование Na^+ , K^+ -АТРазной, K^+ -фосфатазной активностей фермента, препятствует образованию фосфофермента и связыванию с уабаином, но не оказывает влияния на ферментативную активность α -формы [56]. Концентрация пиритиамина, вызывающая 50%-ное ингибирование всех четырех процессов, составляет $\approx 0,2$ мМ. Установлено, что пиритиамины не модифицирует SH-группы фермента, хотя SH-протекторы и препятствуют его действию [56, 63]. Ингибирование носит неконкурентный характер по отношению к АТФ, Na^+ , K^+ ; тиамины предотвращает, но не снимает необратимого ингибирования [63]. Предполагается, что ингибирование фермента под действием пиритиамина является следствием изменений четвертичной структуры Na^+ , K^+ -АТРаза, о чем свидетельствует изменение мутности суспензии фермента при добавлении к нему пиритиамина [63].

Аналогичное избирательное действие на свету на $\alpha(+)$ -форму Na^+ , K^+ -АТРаза мозга оказывает эритрозин В (лекарство и космети-

ческое средство), ингибируя как Na^+ , K^+ -АТФазную активность, так и связывание уабанна ($I_{50}=0,5-1,0$ мкМ) [64, 65].

Вопрос о том, являются ли две формы α -субъединицы Na^+ , K^+ -АТФазы продуктом разных генов или же это результат посттрансляционной модификации белка, в настоящее время дискутируется. Предполагается, что выявленные различия в активности Na^+ , K^+ -АТФазы из разных источников и ее чувствительности к действию ингибиторов определяется в значительной мере генетически детерминированными качественными либо количественными особенностями субъединиц фермента. Подтверждением генетической природы низкой и высокой чувствительности к уабанну Na^+ , K^+ -АТФазы из разных источников являются данные, согласно которым ДНК, выделенная из клеток мышинных фибробластов, резистентных к уабанну, может трансформировать уабанн-чувствительные клетки CV-1 зеленой обезьяны ($I_{50}=1 \cdot 10^{-8}$ М) в уабанн-резистентные ($I_{50}=1 \cdot 10^{-6}$ М). Методом клонирования выявлен фрагмент ДНК, несущий уабанн-резистентный ген [66]. Установлены различия между одноименными участками α - и $\alpha(+)$ -субъединиц Na^+ , K^+ -АТФазы мозга и почек животных по аминокислотному составу [68]. Приводятся данные, согласно которым α - и $\alpha(+)$ -субъединицы транспортной АТФазы являются продуктом функционирования двух разных мРНК (морская креветка) [67]. В пользу структурных различий α - и $\alpha(+)$ -субъединиц свидетельствует также их неодинаковая антигенная детерминированность [53], что, по мнению авторов, подтверждает их различную генетическую природу.

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о структурной и функциональной гетерогенности Na^+ , K^+ -АТФазы. Такая молекулярная гетерогенность, по-видимому, является одним из факторов, определяющих тканевые и межвидовые различия в чувствительности фермента к действию сердечных гликозидов и других специфических ингибиторов. Наибольшее содержание $\alpha(+)$ -изоформы Na^+ , K^+ -АТФазы в нервной ткани и соответственно наибольшая величина соотношения $\alpha(+):\alpha$ в мозгу по сравнению с таковым в других органах млекопитающих, по-видимому, может отражать особую функциональную роль этого изофермента в возбудимых тканях, связанных, возможно, как с поддержанием градиента ионов, так и с другими функциями, в частности, с транспортом ряда субстратов и медиаторов в синаптические окончания. В то же время α -форма фермента, свойственная всем органам и тканям, по-видимому, ответственна за более общие функции Na^+ , K^+ -АТФазы, такие как создание градиента ионов натрия и калия и поддержание мембранного потенциала клетки. Однако вопрос о физиологической роли разных изоформ Na^+ , K^+ -АТФазы еще ждет своего решения.

Na⁺, K⁺-ATPase: STRUCTURAL AND FUNCTIONAL HETEROGENEITY

KODENTSOVA V. M., GULIDOVA G. P.

All-Union Research Center of Mental Health, USSR Acad. Med. Sci.,
Institute of applied Mol. Biology, USSR Ministry of Health, Moscow

Literature data point to the molecular heterogeneity of Na, K-ATPase. Its two isozymes (α and $\alpha(+)$) differ both structurally (molecular weight) and functionally—sensitivity to cardiac glycosides, piritiamin, erithrosin B. The ratio of these multiple forms varies in different organs and species and in ontogenesis. The level of $\alpha(+)$ isozyme is maximal in nervous tissue, minimal—in rens. A possible role of these isozymes of Na, K-ATPase in the manifestation of different sensitivity of enzymes from various species and organs to the action of cardiac glycosides is discussed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А. А. Биологические мембраны и транспорт ионов. М., МГУ, 1985.
2. Jørgensen P. L. *Biochim. et biophys. acta*, v. 694, p. 27–68, 1982.
3. Skou J. C. *Physiol. Rev.*, v. 45, p. 596–617, 1965.
4. Vizi E. S. *Neuroscience*, v. 3, p. 367–384, 1978.
5. Logan J. G., O'Donovan D. J. *Biochem. Pharmacol.*, v. 29, p. 111–112, 1980.
6. Desniah D., Ho J. K. *Biochem. Pharmacol.*, v. 29, p. 2029–2035, 1977.
7. Глзбов Р. Н., Крыжановский Г. Н. Функциональная биохимия синапсов. М., Медицина, 1978.
8. Болдырев А. А. Итоги науки и техники. Сер. биол. н., т. 17, с. 75–146, 1982.
9. Jorgensen P. L. *Kidney International*, v. 29, p. 10–20, 1986.
10. Takemoto L. J., Hansen J. S., Hokin L. E. *Exp. Eye Res.*, v. 35, p. 337–349, 1982.
11. Pertyasami S. M., Huang Wu-H., Askari A. *Comp. Biochem. and Physiol.*, v. 76, p. 449–455, 1983.
12. Болдырев А. А. Успехи физиол. наук, т. 12, с. 91–130, 1981.
13. Urayama O., Nakay M. *J. Biochem.*, v. 83, p. 1371–1331, 1979.
14. Болдырев А. А. Биохимические аспекты электромеханического сопряжения. М., МГУ, 1977.
15. Meult C., Mueller J. J. *Steroid Biochem.*, v. 16, p. 129–132, 1982.
16. Herzog S., Mehr K. Br. *J. Pharmacol.*, v. 82, p. 135–142, 1984.
17. Akera T., Larsen F., Brody T. M. *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, v. 170, p. 17–24, 1969.
18. Онищев П. И. Сердечные гликозиды. М., Медицина, 1970.
19. Poxer A., Godfratnd T. *Biochem. Pharmacol.*, v. 28, p. 3051–3056, 1979.
20. Schonfeld W., Menke K.-H., Schonfeld R., Repke K. R. H. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, v. 119, p. 423–430, 1984.
1. Tobin T., Brody T. M. *Biochem. Pharmacol.*, v. 21, p. 1553–1560, 1972.
22. Tobin T., Henderson R., Sen A. K. *Biochim. et biophys. acta*, v. 274, p. 551–555, 1972.
23. Wallik E. T., Pitts B. R., Lang L. K., Schwartz A. *Arch. Biochem. and Biophys.*, v. 202, p. 442–449, 1980.

24. *Ahmed K., Judah J. D.* Biochim. et biophys. acta, v. 93, p. 603-613, 1984.
25. *Choi Y. R., Akera T.* Biochim. et biophys. acta, v. 508, p. 313-327, 1978.
26. *Schwab H., Dickstein Y., Heller M.* Biochim. et biophys. acta, v. 689, p. 241-247, 1982.
27. *Luzzatti D.* Biochimie, v. 56, p. 1567-1569, 1974.
28. *Baker R. M., Brunette D. M., Mankovitz R., Thompson L. H., Whitmore G. F., Siminovitch L., Till E.* Cell, v. 1, p. 9-21, 1974.
29. *Мирсалихова Н. М.* Автореф. докт. дис., Ташкент, 1982.
30. *Жданов Р. И., Мирсалихова Н. М., Мошковский Ю.* III—В кн.: Метаболизм миокарда, с. 225-231, М., Медицина, 1981.
31. *Hegyvary C., Chigurupati R., Mahoney D.* Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., v. 31, p. 195-203, 1981.
32. *Abejwardena M. Y., Charnock J. S.* Biochim. et biophys. acta, v. 729, p. 75-84, 1983.
33. *Leveivre L., Lachowski A., Charlemagne D., Vagel P., Paraf A.* Biochem. et biophys. acta, v. 557, p. 399-408, 1979.
34. *Болдырева А. А., Лопина О. Д., Свищухова И. А.* Биохимия, т. 46, с. 1519-1525, 1981.
35. *Leopold G., Furukawa K., Forth W., Rumei W.* Biochem. Pharmacol., v. 20, p. 1109-1117, 1971.
36. *Adams R. J., Schwartz A., Grupp G.* Nature, v. 296, p. 167-169, 1982.
37. *Erdmann E., Phillip G., Scholz H.* Biochem. Pharmacol., v. 29, p. 3219-3229, 1980.
38. *Finet M., Noel F., Godfraind T.* Arch. int. Pharmacodyn. Ther., v. 256, p. 168-170, 1982.
39. *Noel F., Godfraind T.* Biochem. Pharmacol., v. 33, p. 47-53, 1984.
40. *Wellsmith N. V., Lindenmayer G. E.* Circ. Res., v. 47, p. 710-720, 1980.
41. *Brown L., Erdmann E.* Biochem. Pharmacol., v. 32, p. 3183-3190, 1983.
42. *Friske U., Klaus W. Br.* J. Pharmacol., v. 61, p. 423-428, 1977.
43. *Mansier P., Lelievre L. G.* Nature, v. 300, p. 535-537, 1982.
44. *Marks M. J., Seeds N. W.* Life Sci., v. 23, p. 2735-2744, 1978.
45. *Fambrough D. M., Bayne E. K.* J. Biol. Chem., v. 258, p. 3926-3935, 1983.
46. *McCans J. L., Lindenmayer G. E., Pitts B. J. R., Ray M. V., Rayner B. D., Butler V. P., Schwartz A.* J. Biol. Chem., v. 250, p. 7257-7265, 1975.
47. *Sweadner K. J.* J. Biol. Chem., v. 254, p. 6060-6067, 1979.
48. *Specht S. C.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 121, p. 208-212, 1984.
49. *Schlinberg G. D., Pech J. V., Stahl W. L.* Biochim. et biophys. acta, v. 649, p. 691-700, 1981.
50. *Lowdes Y. M., Hokin-Neaverson M., Ruoho A. E.* J. Biol. Chem., v. 259, p. 10533-10538, 1984.
51. *Petrall E. H., Sulakhe P. V.* Int. J. Biochem., v. 12, p. 467-470, 1980.
52. *Atterwill C. K., Reid J., Athayde C. M.* Mol. Cell. Endocrinology, v. 40, p. 149-158, 1985.
53. *Sweadner K. J., Gilkeson R. C.* J. Biol. Chem., v. 260, p. 9016-9022, 1985.
54. *Sweadner K. J.* J. Biol. Chem., v. 260, p. 11508-11513, 1985.
55. *Resh M. D., Nemenoff R. A., Guidotti C. M.* J. Biol. Chem., v. 255, p. 10938-10945, 1980.
56. *Matsuda T., Iwata H., Cooper J. R.* J. Biol. Chem., v. 259, p. 3853-3863, 1984.
57. *Peterson G. L., Ewing R. D., Hootman S. R., Conte F. P.* J. Biol. Chem., v. 253, p. 4762-4770, 1978.
58. *David-Dufilho M., Devynck M., Beugras J.-P., Meyer P.* J. Cardiovasc. Pharmacol., v. 6, p. 273-280, 1984.
59. *Lee S.-W., Schwartz A., Adams, R., Yamori Y., Whitmer K., Lunk L., Walltick E. T.* Hypertension, v. 5, p. 682-688, 1984.

60. *Specht S. C., Sweadner K. J.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Biol. Sci., v. 81, p. 1234—1238, 1984.
61. *Marshall P., Hokin I.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 87, p. 476—482, 1979.
62. *Lytton J.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 132(2), p. 764—769, 1985.
63. *Matsuda T., Cooper J. R.* Biochemistry, v. 22, p. 2209—2213, 1983.
64. *Hnatowich M., La Bella F. S.* Mol. Pharmacol., v. 22, p. 687—692, 1982.
65. *Silbergeld E. K.* Neuropharmacology, v. 20, p. 87—90, 1981.
66. *Levenson R., Racaniello V., Albritton L., Housman D.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Biol. Sci., v. 81, p. 1489—1493, 1984.
67. *Fisher J., Baxter-Lowe L. A., Honta L. J.* Biol. Chem., v. 259, p. 14217—14221, 1984.
68. *Lytton J.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 132, p. 764—769, 1985.

Поступила 15. III 1987