

КІНЕТИЧНА ІНТЕРПРЕТАЦІЯ ДІЇ КАЛІКС[4]АРЕНУ C-1130 НА АКТИВНІСТЬ Na^+ , K^+ -АТРАЗИ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ МІОЦИТІВ МАТКИ

Мельник В. В., Малюк О. В., Векліч Т. О.

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України

01601, Київ, вул. Леонтовича, 9

melnik.varvara@gmail.com

Na^+ , K^+ -АТРаза – електрогенна Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТР-залежна транспортна система плазматичної мембрани (ПМ), яка здійснює активне перенесення одновалентних іонів Na і K і тим самим підтримує їх електрохімічні градієнти, які є необхідними для нормального функціонування клітини. Доведено, що у випадку деяких патологій відбувається зміна активності натрієвої помпи, зокрема, при діабеті та ішемії ця активність знижується. З огляду на вищезазначене перспективним є пошук сполуки, яка дозволяла б змінювати активність натрієвої помпи ПМ. З цієї точки зору цікавими є каліксарени, оскільки в попередніх досліджах було знайдено, що калікс[4]арен C-1130 здатний селективно (відносно інших АТР-гідролаз ПМ) інгібувати активність Na^+ , K^+ -АТРази ($I_{0,5} = 38 \pm 6$ нМ). Проте властивості та механізм інгібувальної дії зазначеного каліксарену на Na^+ , K^+ -АТРази не з'ясовано.

Метою цієї роботи було вивчення залежності кінетичних параметрів інгібування Na^+ , K^+ -АТРази ПМ клітин гладеньких м'язів калікс[4]ареном C-1130 від концентрації іонів Mg та АТР. Калікс[4]арени були синтезовані академіком НАНУ В. І. Кальченкою та його колегами (Інститут органічної хімії НАНУ). Експерименти були виконані на суспензії ПМ клітин міометрія, обробленій 0,1 % розчином дигітоніну.

Нами була вивчена залежність питомої активності Na^+ , K^+ -АТРази ПМ від концентрації іонів Mg та АТР в інкубаційному середовищі при різних концентраціях калікс[4]арену C-1130 (відповідно 1, 10, 30, 60 та 100 мкМ).

Перевіряли спорідненість зазначеного ензиму до АТР та іонів Mg в залежності від концентрації калікс[4]арену C-1130, а також його вплив на кооперативний ефект та на максимальну швидкість гідролізу АТР. На спорідненість Na^+ , K^+ -АТРази до АТР калікс[4]арен C-1130 практично не впливає, що свідчить про відсутність конкуренції між центрами зв'язування АТР та C-1130. Так само можна відзначити відсутність впливу на спорідненість та кооперативний ефект іонів Mg . В обох випадках спостерігалось суттєве зменшення максимальної швидкості гідролізу АТР, що у поєднанні з відсутнім впливом на константи спорідненості свідчить про неконкурентний механізм інгібуванням сполукою C-1130 Na^+ , K^+ -АТРази активності.

За допомогою конфокальної мікроскопії ми показали, що ця сполука підвищує концентрацію Ca^{2+} у міоцитах міометрія. За допомогою ЛКС було показано, що C-1130 призводить до зменшення ефективного гідродинамічного діаметру гладеньком'язових клітин, на 55 % відносно контролю, що свідчить про скорочення міоцитів.

Отже, ми показали, що калікс[4]арен C-1130 не впливає на коефіцієнт активації для іонів Mg , уявну константу Міхаеліса K_m за АТР, проте ця сполука в обох випадках зменшує максимальну початкову швидкість V_{max} реакції гідролізу АТР. Таким чином, калікс[4]арен C-1130 діє як повний неконкурентний інгібітор Na^+ , K^+ -АТРази ПМ.

Передбачається, що отримані експериментальні дані, які були одержані з використанням калікс[4]арену C-1130, можуть мати значення для з'ясування ролі натрієвої помпи ПМ у контролі внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca міоцитах матки.

Автори висловлюють вдячність академіку НАНУ проф. С. О. Костеріну за обговорення результатів дослідів та творчі дискусії.