

ВПЛИВ КАЛІКС[4]АРЕНУ C-1220 НА КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ Na⁺,K⁺-АТРАЗИ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ МІОЦИТІВ МАТКИ*Малиук О. В.*, Векліч Т. О.

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України

01601, Київ, вул. Леонтовича, 9, Україна

o.maliuk@biochem.kiev.ua

Скорочення гладеньком'язових клітин забезпечується узгодженою роботою мембранних іон-транспортних систем, які підтримують іонний гомеостаз, формують електрохімічні градієнти та визначають рівень внутрішньоклітинного Ca²⁺ — ключового регулятора скоротливого процесу. Важливу роль у цих механізмах відіграє Na⁺,K⁺-АТРаза плазматичної мембрани, активність якої забезпечує функціонування Na⁺-залежних систем вторинного активного транспорту, зокрема Na⁺/Ca²⁺- та Na⁺/H⁺-обміну. Порухення активності натрій-калієвої помпи призводить до зсувів мембранного потенціалу, дисбалансу катіонів і порушення кальцієвого сигналіngu, що безпосередньо відбивається на скоротливій функції гладеньких м'язів. 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-1220 здатний селективно (відносно інших АТР-гідролаз ПМ) інгібувати активність Na⁺,K⁺-АТРази (I_{0,5} = 48±2 нМ). Проте властивості та механізм інгібувальної дії зазначеного каліксарену на Na⁺,K⁺-АТРази активність не з'ясовано.

Метою цієї роботи було вивчення залежності кінетичних параметрів інгібування Na⁺,K⁺-АТРази ПМ клітин гладеньких м'язів калікс[4]ареном C-1220 від концентрації іонів Mg та АТР. Калікс[4]арени були синтезовані академіком НАНУ В.І. Кальченком 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-1220 (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-1220, а також його вплив на кооперативний ефект та на максимальну швидкість гідролізу АТР. На спорідненість Na⁺,K⁺-АТРази до АТР калікс[4]арен C-1220 практично не впливає, що свідчить про відсутність конкуренції між центрами зв'язування АТР та C-1220. 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-1220 Na⁺,K⁺-АТРази активності.

За допомогою конфокальної мікроскопії ми показали, що ця сполука підвищує концентрацію Ca²⁺ у міоцитах міометрія.

Отже, ми показали, що калікс[4]арен C-1220 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-1220 діє як повний неконкурентний інгібітор Na⁺,K⁺-АТРази ПМ.

Передбачається, що отримані експериментальні дані, які були одержані з використанням калікс[4]арену C-1220, 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.