Національний університет “Києво-Могилянська Академія”

**Реферат з курсу основи мембранології**

**тема:**

**Характеристика Mg2+ -залежної Сa2+-активованої ATPази**

**плазматичних мембран.**

Студентки І курсу

МП Біологія

**Дудник Ірини**

Київ

1999

**ПЛАН.**

|  |  |
| --- | --- |
| Вступ. 1.Структура Mg2+,Ca2+ - ATPази плазматичних мембран; |  |
| 2.Каталітичні та кінетичні властивості очищеного ферменту; |  |
| 3.Регуляція ферменту внутрішньоклітинними факторами та фізіологічно-активними речовинами.  Висновки. |  |
|  |  |

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |

**Вступ: функціональна роль Ca2+, Mg 2+- ATPази плазматичних мембран.**

Іони кальцію контролюють багато важливих фізіологічних функцій клітини, таких, як електрохімічне спряження при м’язевому скороченні, проникність мембран для іонів натрію та калію, впливають на роботу іонних насосів, регулюють роботу ферментів. Внутрішньоклітинна концентрація кальцію на чотири порядки нижча від зовнішньоклітинної; такий високий градієнт концентрації досягається завдяки функціонуванню АТР- залежних кальцієвих помп.

Результати досліджень енергозалежних Са2+-транспортуючих систем вказують на існування двох типів Са2+-помп: це Са2+ - помпи ендоплазматичного ретикулуму та плазматичних мембран. Ці системи характеризуються високою спорідненістю до Са2+, що відповідає концентрації цього катіона в клітині в незбудженому стані.

Для м’язів з добре розвиненим ендоплазматичним ретикулумом (серцевий, скелетні, гладенькі м’язи великих судин, подвздошної кишки) значну роль в регуляції цитоплазматичної концентрації іонів Са2+ може виконувати Са2+-помпа саме саркоплазматичного ретикулуму. Але в клітинах гладеньких м’язів ендоплазматичний ретикулум розвинений набагато гірше, ніж в скелетних та серцевих, і для більшості таких клітин величина поверхні ендоплазматичного ретикулуму складає 10 % від поверхні плазматичної мембрани. Тому є підстави вважати, що більш суттєва роль в регуляції внутрішньоклітинної концентрації іонів Са2+ в гладеньком’язовій клітині належить саме Са2+-транспортуючій системі плазматичної мембрани.

Тонічне скорочення міометрію визначається базальним потоком іонів Са2+, який входить в незбуджені міоцити за фізіологічних умов, і цей вхід компенсується кальцієвою помпою сарколеми.

Таким чином, Са2+-помпа плазматичних мембран не тільки контролює процес розслаблення гладенького м’язу, але і забезпечує довготривалий трансмембранний обмін Са2+, підтримуючи стаціонарне значення концентрації іонів Са2+ в міоцитах на рівні 10-7- 10-6 М, компенсуючи повільне базальне дифузійне надходження цього катіону в цитоплазму із зовнішньоклітинного простору і регулюючи міогенний тонус м‘язу.

***Структура Ca2+, Mg2+ - ATPази плазматичних мембран.***

Са2+-залежна АТР-гідролазна активність вперше була знайдена в плазматичних мембранах еритроцитів Дангемом та Глінном в 1961 році. Через 5 років було продемонстровано Шацманном, що виведення Са2+ з еритроцитів супроводжується процесом гідролізу АТР всередині клітини та може відбуватися проти штучно створеного високого градієнта концентрації. Але довгий час після відкриття Са2+, Mg2+- АТРази еритроцитів проблема Mg2+, АТР - залежного транспорту Са2+ залишалась мало розробленою, оскільки велись широкі дослідження іншого механізму трансмембранного переносу іонів Са2+,- Na+-Са2+обмінник.

Уявлення про вузьке розповсюдження Са2+, Mg2+- АТРази були спростовані лише в 1978 році, коли Ді Поло та його співробітники описали АТР-залежний транспорт Са2+ крізь плазматичні мембрани типових збудливих клітин - гігантських аксонів кальмара. За короткий час присутність Са2+, Mg2+- АТРази була доведена для плазматичних мембран багатьох клітин – скелетних, гладеньких м’язів та серцевих м’язів, клітин залозистих тканин, мозку та клітин. За сучасними даними Са2+, Mg2+- АТРаза плазматичних мембран відноситься до числа найбільш широко розповсюджених ферментних систем та є невід’ємним білковим компонентом плазматичної мембрани клітин еукаріот.

Перші найбільш загальні відомості про будову та функції Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран були отримані при дослідженні ферменту у складі нативної мембрани еритроцитів. Однією з найважливіших характеристик АТР-гідролазної системи є механізм гідролізу АТР. За цією ознакою всі відомі АТРази розділяють на два основних типи. АТРази першого типу (F та V-АТРази) здійснюють реакцію гідролізу АТР шляхом прямого переносу γ-фосфату молекули АТР на молекулу води. Ферменти другого типу – Р-АТРази або Е1-Е2-АТРази - під час гідролізу АТР утворюють проміжну фосфорильовану форму ферменту. Вони переносять γ-фосфат молекули АТР на фермент з утворенням ковалентного ацилфосфатного зв’язку з бічною карбоксильною групою амінокислотного залишку білку, а потім шляхом гідролізу цього зв’язку на молекулу води.

Дослідження функціональних властивостей Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран продемонстрували її приналежність до ферментів Е1-Е2 типу. При підвищенні концентрації іонів Са2+ в цитоплазмі відбувається зв’язування катіонів з ферментом, який знаходиться у формі Е1-конформації, що характеризується високою спорідненістю до Са2+. Відбувається Са2+-залежний перенос γ-фосфату молекули АТР на молекулу ферменту та утворення фосфорильованого продукту Е1-Р. На стадії фосфорильованого ферменту відбувається конформаційна перебудова білка у форму Е2-Р. На стадії конформеру Е2-Р спорідненість Са2+, Mg2+- АТРази до іонів Са2+ падає на декілька порядків. Результатом такого конформаційного переходу є вивільнення Са2+ у зовнішньоклітинний простір. Завершується реакційний цикл Mg2+-залежним дефосфорилюванням Са2+, Mg2+- АТРази та перетворенням ферменту у форму Е1 (Рис.1).

***Рисунок 1.***

**Схема реакційного циклу Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран.**

**Са2+**

**АТР + Е1 Е1 - Р + АDР**

**Рі + Е2 Е2 - Р**

**Са2+**

де Е1, Е2 - конформаційні форми ферменту,

Рі - неорганічний фосфат.

Дослідження Са2+, Mg2+- АТРази у складі нативної плазматичної мембрани дозволило отримати лише найбільш загальні відомості про її структуру та функції. Для більш детального дослідження цих характеристик треба отримувати солюбілізовану форму ферменту.

Доступність солюбілізованої форми даного ферменту надала можливість визначення первинної структури молекули Са2+, Mg2+- АТРази, що дало змогу остаточного докорінного аналізу всіх його властивостей.

Вперше повна амінокислотна послідовність Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран клітин людини була встановлена в 1988 році. Для аналізу нуклеотидної послідовності було використано ген ферменту з сДНК банку тератокарциноми прямої кишки людини. Закодована послідовність складалась з 1220 амінокислотних залишків, що утворюють поліпептид молекулярною вагою 134 683 Да.

В будові ферменту були знайдені великі ділянки структурної подібності з іншими іонтранспортуючими Е1-Е2-АТРазами. До таких ділянок відносяться : 1) пептидна ділянка навколо амінокислотного залишку Asp-475, який фосфорилюється під час реакційного циклу; 2) FITC (АТР)- зв’язуюча ділянка; 3) пептидна ділянка, що розміщена між двома попередніми, яка забезпечує їх просторове зближення та ін. Наявність цих гомологічних та висококонсервативних ділянок в структурі Е1-Е2-АТРаз, напевно, обумовлено їх участю у найважливіших та загальних для всіх АТРаз етапах функціонування.

Молекула містить 10 трансмембранних сегментів, що з’єднані на зовнішньоклітинній поверхні плазматичної мембрани досить короткими петлями. На внутрішньоклітинному боці плазматичної мембрани фермент утворює якнайменше дві довгі гідрофільні петлі (між другим та третім, четвертим та п’ятим гіфдрофобними сегментами). До складу другої петлі входять АТР-фосфорилюємий та АТР зв’язуючий сегменти каталітичного ферментативного центру. Функціональна роль першої петлі поки що не з’ясована. По аналогії з іншими Е1-Е2-АТРазами вона може брати участь у спряженні процесів транслокації катіонів та гідролізу АТР. Слід зазначити, що до складу цієї петлі входить також суто специфічний для Са2+, Mg2+- АТРази фрагмент, який напевно є регуляторним центром ферменту, що є чутливим до фосфоліпідів.

В середину клітини також експоновані N- та C - кінцеві ділянки Са2+, Mg2+- АТРази. Функціональна роль N-кінцевого сегменту остаточно не з’ясована, але наявність в ній великої кількості негативно заряджених амінокислотних залишків дає підстави вважати, що він бере участь у процесі безпосереднього зв’язування з іонами Са2+. С-кінцевий сегмент без сумніву є регуляторним, оскільки тут розташовані кальмодулінзв’язуюча аутоінгібіторна ділянка, сегмент регуляторного фосфорилювання ферменту сАМР-залежною протеїнкіназою. Області навколо кальмодулінзв’язуючої ділянки білка також багаті на від’ємно заряджені амінокислотні залишки, що дає підставу розглядати їх в якості центрів зв’язування та транслокації катіонів.

В 1988 році була висунута гіпотеза про існування декількох ізоформ Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран при співставленні даних про первинну структуру ферменту, отриманих за допомогою методів генної інженерії та білкової хімії. Було показано, що Са2+, Mg2+- АТРаза плазматичних мембран тератокарциноми людини (hPMCA 1) відрізняється за будовою від Са2+, Mg2+- АТРази мембран еритроцитів людини. З 184 амінокислотних залишків, що входять до складу структурно охарактеризованих пептидних фрагментів Са2+, Mg2+- АТРази еритроцитів, лише 158 залишків були ідентичні відповідним амінокислотним залишкам Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран тератокарциноми .

Пызныше Шал та Гріб описали три різні ізоформи Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран з бібліотеки сДНК мозку щурів: rPMCA 1 та rPMCA 2 (rPMCA 3). Всі три ізоформи кодувались окремими генами. Одна з ізоформ Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран клітин мозку щурів (rPMCA 1) складалась з 1176 амінокислотних залишків та мала молекулярну вагу 129500 Да. Її перші 1117 амінокислотних залишків на 99 % були ідентичні трохи раніше описаній ізоформі Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран тератокарциноми прямої кишки людини (hPMCA 1). Аналіз амінокислотних послідовностей дозволив зробити висновок про те, що обидві ізоформи є продуктами одного гену, а розбіжності в структурі С-кінцевих послідовностей є результатом альтернативного сплайсингу відповідних мРНК. Аналогічно було доведено, що ізоформи hPMCA 2 тератокарциноми прямої кишки людини та rPMCA 2 клітин мозку щурів та відповідні ізоформи hPMCA 3 клітин слизової оболонки кишечнику та rPMCA 3 клітин мозку щурів також є продуктами експресії окремих структурних генів.

Слід зазначити, що при скринингу бібліотеки сДНК з мозку бика були знайдені фрагменти структурного гену ще однієї ізоформи Са2+, Mg2+- АТРази. ЇЇ структура досить істотно відрізняється від структури раніше описаних ізоформ, що є підстави говорити про існування четвертого структурного гену Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран.

За допомогою Northern blot аналізу було доведено, що експресія PMCA 1-4 генів є органозалежною: так, продукти транскрипції гену PMCA 1 характеризуються найширшою розповсюдженістю та представляють головну репрезентативну ізоформу Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран. PMCA 2 ізоформа Са2+, Mg2+- АТРази переважно виявляється в плазматичних мембранах клітин мозку, серця та печінки, PMCA 3 – в плазматичних мембранах клітин мозку та скелетних м’язів. PMCA 4 ізоформа може бути експресована в еритроцитах та інтестінальних клітинах.

Як вже було зазначено вище, первинні транскрипти кожного з генів можуть піддаватись альтернативному сплайсингу на 3’-кінці нуклеотидної послідовності. Існування великої різноманітності білкових продуктів гену PMCA 1 пояснюється виключенням, включенням або частковим включенням 3’-кінцевого екзону у нуклеотидну послідовність мРНК під час її дозрівання. Процес альтернативного сплайсингу може захоплювати ділянки РНК , які кодують функціонально важливі регуляторні центри ферменту, що знаходяться на С-кінці його поліпептидної послідовності. Зміна в структурній будові цих фрагментів є логічним поясненням існування форм Са2+, Mg2+- АТРаз, що відрізняються за чутливістю до кальмодуліну, ванадату, процесів фосфорилювання та ін.

Отже, існування різноманітних за своїми функціональними та регуляторними властивостями форм Са2+, Mg2+- АТРаз плазматичних мембран пояснюється багаточисельністю кодуючих генів Са2+, Mg2+- АТРаз та існування можливості альтернативного сплайсингу РНК матриць одного й того ж структурного гену. Однак досить логічного пояснення явищу поліморфізму для Са2+, Mg2+- АТРаз плазматичних мембран, їх тканинної специфічності, розбіжності в їх функціональних та регуляторних властивостях поки що не знайдено.

***Каталітичні та кінетичні властивості очищеного ферменту.***

Са2+-транспортуюча АТРаза працює на підтримання концентрації іонів Са2+ на рівні 10-8 – 10-7 М. Відповідно цей фермент характеризується дуже високою спорідненістю до субстрату переносу. Очищена Са2+, Mg2+- АТРаза плазматичних мембран кардіоміоцитів мала К0,5 по Са2+ у присутності кальмодуліну 0,4 мкМ, без кальмодуліну спорідненість зменшувалась: К0,5 по Са2+ становила 20 мкМ. Для ферменту, отриманого з клітин інших типів (гладенькі м’язи шлунку, міометрію, клітини аорти) К0,5 за відсутності кальмодуліну аналогічно зменшувалась більш ніж на порядок.

На ферменті з мембран еритроцитів було виявлено, що уявна спорідненість ферменту до Са2+ значно збільшувалась у присутності кальмодуліну при високій концентрації Mg2+ і менш реагувала на кальмодулін при низькій концентрації цього катіону (менше2 мМ). Найвища уявна спорідненість до Са2+ спостерігалась при рН 8,0 в присутності чи у відсутності кальмодуліну і прогресивно зменшувалась при наближенні до рН 6,0.

Уявна спорідненість Са2+-транспортуючої АТРази мембран еритроцитів до кальмодуліну є досить високою: К0,5 по кальмодуліну становила біля 6 нМ незалежно від концентрації Mg2+. К0,5 по кальмодуліну Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран гладеньком’язових клітин шлунку складала 27,0 нМ.

Для очищеного ферменту з мембран еритроцитів показана наявність двох КМ по MgATP: високої спорідненості та низької, що дорівнювали відповідно 7 та 140 мкМ. При мілімолярних концентраціях вільного Mg2+, перевищуючих концентрацію АТР, активність ферменту гальмувалась.

Після перевірки в якості субстратів очищеної Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран клітин міометрію АТР, GTP, UTP, CTP, було показано, що фермент є строго специфічним відносно субстрату та гідролізує виключно молекулу АТР.

Виявлено, що оптимум рН для Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран кардіоміоцитів 7,3, мембран еритроцитів – 7,0 – 7,25. Оптимальним для роботи очищеної Са2+, Mg2+- АТРази сарколеми міометрію є рН 7,5 – 8,0, в той час як для мембранної її форми оптимум рН знаходиться в діапазоні 6,4 – 7,0.

Температурний оптимум для очищеної Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран еритроцитів спостерігався при 37 – 41 ОС, для Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран клітин міометрію – при 40 – 45 ОС. Підвищення температури до 50 ОС призводило до значного зниження активності очищеного ферменту.

***Регуляція ферменту внутрішньоклітинними факторами та фізіологічно активними речовинами.***

Виконуючи в клітинах роль регуляторної системи концентрації іонів Са2+, Са2+, Mg2+- АТРаза плазматичних мембран сама є мішенню для дії великої кількості регуляторів. ЇЇ активність та спорідненість до Са2+ можуть значно моделюватися багатьма білковими та небілковими факторами - кальмодуліном, кислими фосфоліпідами плазматичних мембран, двохвалентними іонами, сАМР-залежною протеінкіназою та протеінкіназою С, процесом обмеженого протеолізу.

*Регуляція Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран кальмодуліном.*Перші відомості про регуляцію Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран кальмодуліном були отримані на початку 70-х років Бондом та Клау. В своїй роботі вченими було показано, що для переведення ферменту з менш активної форми А в більш активну форму В було необхідним додавання до виділених мембран не лише іонів Са2+ для моделювання реакції накопичення іонів Са2+, а також внутрішньоклітинного вмісту, який, напевно, містив “фактор активації”. Пізніше цей фактор було виділено, охарактеризовано та названо кальмодуліном.

Кальмодулін - це невеликий термостабільний білок, що представлений одним поліпептидним ланцюгом молекулярною вагою 16,7 кДа. Цей білок є дуже консервативним: його амінокислотна послідовність є практично повністю ідентичною в ряду від безхребетних до вищих ссавців та людини. Така еволюційна консервативність є свідоцтвом виключно важливої ролі кальмодуліна як регулятора багатьох ферментних систем живих організмів. На цей час відомо понад два десятки кальмодулінзалежних білків. Вважається, що кальмодулін є універсальним регулятором більшості Са2+-залежних ферментів, але лише для Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран показана пряма регуляція кальмодуліном її активності через безпосередню взаємодію ферменту та активатора. Взаємодія Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран з кальмодуліном призводить до підвищення спорідненості системи до іонів Са2+ (у присутності кальмодуліна К0,5 для Са2+ = 0,5 мкМ, у відсутності - КМ для Са2+ = 10 - 20 мкМ) та 10-кратного підвищення швидкості гідролізу АТР та трансмембранного перенесення Са2+. Кальмодулінзв’язуючий сегмент Са2+, Mg2+- АТРази характеризується: 1) наявністю великої кількості позитивно заряджених залишків Arg та Lys та їх переважною локалізацією на N-кінцевій ділянці сегмента; 2) переважанням гідрофобних залишків на С-кінцевій ділянці сегмента; 3) наявністю залишку Trp та трьох залишків Ser відповідно на N- та С-кінцевих ділянках пептида. Сам кальмодулінзв’язуючий сегмент знаходиться, як вже було зазначено вище, в С-кінцевій області ферменту.

Виходячи з подібних досліджень, було запропоновано можливий механізм взаємодії Са2+, Mg2+- АТРази з кальмодуліном: N-кінцевий сегмент кальмодулінзв’язуючого домену, збагачений залишками Arg та Lys, за відсутності кальмодуліна взаємодіє з високоафінним Са2+-зв’язуючим доменом, частково інактивуючи фермент. При додаванні кальмодуліна, активатор взаємодіє з кальмодулінзв’язуючим центром Са2+, Mg2+- АТРази,  руйнуючи попередню взаємодію та вивільнюючи Са2+-зв’язуючий домен ферменту.

*Регуляторний вплив на Са2+, Mg2+- АТРазу кислих фосфоліпідів плазматичних мембран.* Регуляторна дія кислих фосфоліпідів на активність Са2+, Mg2+-АТРази досліджувалась на препаратах виділеного та очищеного ферменту. До очищеної Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран додавались такі негативно заряджені фосфоліпіди: фосфатидилінозитол 4,5-бісфосфат (PtdIns4,5P2), фосфатидилінозитол 4-фосфат (PtdIns4P), фосфатидилінозитол (PtdIns), фосфатидилсерін (PtdSer) та фосфатидна кислота (PtdOH). Відносна ефективність впливу перелічених фосфоліпідів на активність солюбілізованої Са2+, Mg2+- АТРази розподілилась за таким рядом: PtdIns4,5P2> PtdIns4P > PtdIns = PtdSer = PtdOH [44]. Стимулюючий ефект кислих фосфоліпідів кінетично проявляється в майже 10-кратному підвищенні швидкості реакції (Vmax) транспортування катіонів та гідролізу АТР та спорідненості ферменту до іонів Са2+. Але регуляторний вплив кислих фосфоліпідів на Са2+, Mg2+- АТРазу є більш складним, оскільки дуже високі їх концентрації призводять до відчутного зниження Vmax. Також було підтверджено експериментально, що регуляторна дія кислих фосфоліпідів проявляється як в присутності, так і у відсутності кальмодуліна. Це дозволило зробити висновок про незалежність механізмів дії кальмодуліна та кислих фосфоліпідів на Са2+, Mg2+- АТРазу та відокремленість їх регуляторних центрів в молекулі білка.

*Вплив сАМР-залежної протеїнкінази та протеїнкіназои С**на активність Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран.* сАМР-залежний сайт фосфорилювання Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран еритроцитів знаходиться на С-кінці поліпептидного ланцюга збагаченого залишками серіну. Процес фосфорилювання сАМР-залежною протеїнкіназою Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран призводить до підвищення її активності: К0,5 для іонів Са2+ падає з 10 мкМ до 1,4 мкМ, а Vmax процесу гідролізу АТР зростає приблизно в 2 рази. На відміну від кальмодулін незалежного впливу кислих фосфоліпідів на активність Са2+, Mg2+- АТРази процес фосфорилювання ферменту сАМР-залежною протеїнкіназою чутливий до присутності кальмодуліна: кальмодулін запобігає процесу фосфорилювання та стимуляції Са2+, Mg2+- АТРази сАМР-залежною протеїнкіназою.

Фосфорилювання Са2+, Mg2+- АТРази плазматичних мембран протеїнкіназою С також підвищує Vmax каталізуємої ферментом реакції та його спорідненість до іонів Са2+. Але на відміну від сАМР-залежної протеїнкінази вплив протеїнкінази С та кальмодуліна є аддитивними.

Є дані про *чутливість активності Са2+, Mg2+- АТРази фракції сарколеми гладеньм’язових клітин до фізіологічно активних та фармакологічних речовин* – окситоцина, брадикініна, простагландинів, естрогенів та прогестерона, карбахола, сигетина.

Окситоцин – це пептидний гормон, що складається з 9 амінокислотних залишків, синтезується в супраоптичних та паравентрикулярних ядрах гіпоталамусу та депонується в нейрогіпофізі. Окситоцин стимулює скорочення м’язових клітин матки та міоепітеліальних клітин молочних залоз. Під впливом цього гормону зростає амплітуда та частота скорочень клітин міометрію, підвищується тонус матки. Окситоцинові рецептори розміщені на поверхні плазматичних мембран клітин-мішеней. На жаль молекулярний механізм дії даного гормону поки що остаточно не з’ясований.

Дослідженнями, проведеними на фракції плазматичних мембран клітин міометрію було продемонстровано, що окситоцин інгібує активність мембранозв’язаної Са2+, Mg2+- АТРази- введення окситоцину в середовище гомогенізації тканини міометрію призводить до зниження рівня АТР-залежної акумуляції іонів Са2+ в везикулах сарколеми, причому, інгібіторний вплив окситоцину на активність Са2+, Mg2+- АТРази проявлявся в присутності гормону саме всередині везикул сарколеми, тобто він опосередкований взаємодією гормону із специфічними рецепторами на зовнішньоклітинному боці плазматичної мембрани. Дослідження інгібіторного впливу окситоцину на мембранозв’язаний та очищений фермент за. різних концнтрацій гормону дає можливість передбачати, що окситоцин впливає на Са2+, Mg2+- АТРазу плазматичних мембран опосередковано через певні мембранні структури, наприклад гліколіпіди.

Простагландини, гормоноподібні регуляторні молекули, похідні арахідонової та інших поліненасичених жирних кислот, досить широко використовуються в медичній практиці. Механізм дії простагландинів, що призводить до стимуляції скорочень міометрію майже не досліджений, але існує думка, що однією з причин стимуляції скоротливої активності міометрію під впливом цих сполук може бути підвищення концентрації внутрішньоклітинного Са2+ внаслідок інгібування простагландинами Са2+-помпи плазматичної мембрани. Показано, що простагландин Е2 та простагландин F2α інгібують Са2 На препараті солюбілізованого та очищеного ферменту простагландини Е2 та F2α в діапазоні концентрацій +, Mg2+- АТРазну активність препарату плазматичних мембран міометрію. 10-8 – 10-4 М абсолютно не впливають на його активність. Такі дані очевидно пояснюються тим, що простагландини впливають на активність Са2+- транспортної АТРази плазматичних мембран не безпосередньо, а через рецептор та системи, що забезпечують спряження останнього з ферментом.

##### ВИСНОВКИ

Са2+-помпа плазматичних мембран виконує дві основних функції: контролює процес розслаблення гладенького м’язу та забезпечує довготривалий трансмембранний обмін Са2+, підтримуючи стаціонарне значення концентрації іонів Са2+ в міоцитах на рівні 10-7- 10-6 М, компенсуючи повільне базальне дифузійне надходження цього катіону в цитоплазму із зовнішньоклітинного простору і регулюючи міогенний тонус м‘язу.

Са2+-помпа плазматичної мембрани активується кальмодуліном і таким шляхом може брати участь в кальцієвій регуляції циклу скорочення-розслаблення гладеньком’язової клітини. Крім того, активність Са2+-помпи плазматичних мембран гладеньких м’язів (судин, матки) чутлива до змін мембранного потенціалу, кислих фосфоліпідів, фософрилювання протеїнкіназою С. Спорідненість Са2+, Mg2+- АТРази до іонів Са2+ набагато вища за спорідненість інших Са2+-трaнспортуючих систем – Na+ - Cа2+ обмінника та Cа2+ транспортної системи мітохондрій. Так, на міометрії показано, що К0,5 по Са2+ дорівнює для вищезгаданих систем 0,49, 50-60 та 4,07 мкМ відповідно. Крім того, Са2+, Mg2+- АТРаза плазматичних мембран гладеньком’язових клітин чутлива до дії деяких фізіологічних та фармакологічних речовин, регуляторів скорочення-розслаблення міоцитів. Інгібування Са2+-помпи плазматичної мембрани гладеньких м’зів окситоцином, простагландинами, сигетином та іншими речовинами, що активують скорочення гладеньких м’язів свідчить про участь цієї системи в контролі процесу розслаблення цих м’язів.

***Список використаної літератури:***

1. Костерин С.А. Транспорт кальция в гладких мышцах. – К.: Наукова думка, 1990. – 216с.
2. Костерин С.А., Червоненко И.В., Бурдыга Ф.В. Механизм кальциевого контроля тонического сокращения гладкой мышцы // Биофизика. – 1990. – Т. 35, № 4. – С. 665 – 669.
3. Зварич Е.И. Са2+, Mg2+- АТРаза плазматических мембран. Структура и функции // Биологические мембраны. – 1991. - Т. 8, № 6. - С. 565 - 585.
4. Любаковская Л.А., Слинченко Н.Н., Бурчинская Н.Ф., Курский М.Д. Каталитические свойства очищеной Са2+, Mg2+- АТРазы сарколемы миометрия // Биохимия. – 1990. - Т. 55, № 7 - С. 1237 – 1243.
5. Carafoli E. The Ca2+ pump of the plasma membrane // J. Biol. Chem. – 1992. – Vol. 267, № 4. – P. 2115 – 2118.
6. Raeymaekers L., Wuytack F. Ca2+ pumps in smooth muscle cells. // Journal of Muscle Research and Cell Motility. 1993, V.14, № 1. - P. 141 – 157.