

ОГЛЯДИ

УДК 577.15.152+576.32/36:616.1-02

Г. Л. Вавілова, О. В. Аكوпова, В. Ф. Сагач

Ендотеліальні фактори в регуляції активності Na^+, K^+ -АТФази

Эндогенные вазоактивные агенты и, особенно, эндотелиальные факторы регуляции сосудистого тонуса оказывают значительное влияние на активность Na^+, K^+ -АТФазы и могут играть определенную роль в нарушении функционирования Na -насоса, что в свою очередь может способствовать нарушению механизмов регуляции сосудистого тонуса и развитию патологии сердечно-сосудистой системы. В обзоре представлены основные внутриклеточные механизмы активации и ингибирования Na^+, K^+ -АТФазы эндотелиальными вазоактивными агентами. Показаны некоторые аспекты физиологического действия убаиноподобного фактора как эндогенного ингибитора Na^+, K^+ -АТФазы.

Вступ

Na^+, K^+ -аденозинтрифосфатаза (Na^+, K^+ -АТФаза, КФ 3.6.1.37) — транспортний фермент, який використовує енергію в результаті гідролізу аденозинтрифосфату (АТФ) для здійснення активного протилежноградієнтного електрогенного транспорту Na^+ і K^+ через плазматичні мембрани і який виконує деякі ключові функції, необхідні для нормальної життєдіяльності організму [1]. Градієнт концентрації Na^+ , який підтримується Na^+, K^+ -АТФазою (Na -насосом), не тільки створює можливість роботи за допомогою Na -насоса системи вторинноактивного транспорту, але також є необхідною умовою реалізації скорочувальної активності м'язових тканин, що робить фермент важливим елементом регуляції судинного тонусу [14, 20]. Функціональна значимість Na -насоса в регуляції судинного тонусу забезпечується, з одного боку, його значним внеском у мембранний потенціал гладеньком'язових клітин [51], а з іншого — його участю в регуляції внутрішньоклітинного Ca^{2+} [41, 69].

Активация Na -насоса супроводжується зниженням концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} — $[\text{Ca}^{2+}]_i$, що призводить до релаксації судин [51], у той час як інактивация спричинює різке підвищення концентрації Ca^{2+} у цитозолі і супроводжується вазоконстрикторною реакцією [69]. Робиться припущення, що активация Na -насоса є внеском в релаксацію судин внаслідок гіперполяризації мембран гладеньком'язових клітин, яка запобігає проникненню Ca^{2+} до клітин через потенціалзалежні кальцієві канали, а також за рахунок видалення Ca^{2+} із клітин за допомогою натрій-кальцієвого обмінника, активність якого залежить від градієнта концентрації Na^+ , котрий утворюється в результаті функціонування Na -насоса, що призводить

© Г. Л. Вавілова, О. В. Аكوпова, В. Ф. Сагач

до підсилення скорочувальних реакцій гладеньких м'язів [69]. Підвищення вмісту $[Ca^{2+}]_i$ пов'язують з частковою деполаризацією мембран та можливістю доступу Ca^{2+} до клітин через кальцієві канали або з інактивацією натрій-кальцієвого обмінника. Такий механізм, як можна припустити, лежить в основі позитивної інотропної дії на міокард фармакологічних доз серцевих глікозидів [14].

Na-насос є одним із ланцюгів у системі механізмів регуляції судинного тонуусу і бере участь у механізмах скорочення та релаксації гладеньком'язових тканин за допомогою вазоактивних агентів, в тому числі і ендотеліального походження [65]. Так, виявлена участь Na-насоса в механізмах регуляції цитозольного Ca^{2+} брадикініном в ендотеліальних клітинах [41], а також у механізмах вазодилаторної дії оксиду азоту (NO) [63, 73] і, можливо, ендотеліального гіперполяризуючого фактора [20]. У той же час інактивація ферменту підсилює вазоконстрикторну дію ендотеліну (ET) та норадреналіну [56] і знижує ефективність вазодилаторних агентів, у першу чергу NO [60].

Ендотеліальні фактори впливають не тільки на гладеньком'язові та ендотеліальні клітини, але й на клітини епітеліальних тканин, що, можливо, пов'язано з неоднаковими функціями цих агентів у тканинах різних типів.

Значна кількість даних свідчить про те, що ендотеліальні фактори, в свою чергу, не тільки впливають на активність Na-насоса за фізіологічних умов, але й можуть відігравати певну роль у порушеннях його функціонування при різних патологічних станах. Особливої уваги заслуговує факт взаємодії ендогенного інгібітора Na-насоса, убаїноподібного фактора, деяких ендотеліальних агентів, таких, наприклад, як ET і ангіотензину (АНГ), у розвитку патології серцево-судинної системи, зокрема, серцевої недостатності та певних форм гіпертензії. В останні роки досягнуто суттєвого прогресу в розумінні внутрішньоклітинних механізмів регуляції активності Na^+, K^+ -АТФази ендотеліальними вазоактивними речовинами. Нижче викладаються основні досягнення цих досліджень.

Рецепторопосередковані механізми регуляції активності Na-насоса ендотеліальними вазоактивними агентами

Клітини судинного ендотелію синтезують цілу низку фізіологічних вазоактивних речовин: ET, АНГ, NO, метаболіти арахідонової кислоти (АК). Скорочувальні та дилаторні реакції, які ініціюють ці агенти в різних судинах, інтенсивно вивчаються протягом останнього десятиріччя [5, 8, 25, 52]. Менше вивченими є опосередковані ними механізми активації чи інгібування Na-насоса [12, 20]. Разом з тим ендотеліальні фактори здатні значно впливати на активність Na-насоса і є його ендогенними регуляторами за фізіологічних умов.

Дія вазоконстрикторних ендотеліальних агентів, в першу чергу, ET і АНГ, пов'язана з активацією фосфоліпази С, вивільненням інозитолтрифосфату та діацилглицерину, активацією протеїнкінази С і опосередкована виходом Ca^{2+} із внутрішньоклітинних депо або надходженням Ca^{2+} до клітин через кальцієві канали (той чи інший механізм переважає у різних типах

судин). Взаємодія ЕТ і АНГ з їх рецепторами на мембрані через G-білки призводить до утворення складного ланцюга внутрішньоклітинних реакцій, а також до збільшення синтезу NO [8, 52], активації цитозольної фосфоліпази A_2 та вивільнення біологічно активних метаболітів АК, у тому числі простагліну, тромбоксану A_2 [52] і ендотеліального гіперполяризуючого фактора [25].

Велика кількість метаболічних шляхів, які ініціюються ЕТ і АНГ, реалізується в широкому спектрі механізмів їх різнобічної дії на Na-насос у різних тканинах. Існують протиріччя відносно дії ЕТ на Na^+, K^+ -АТФази. Так, активуюча дія ЕТ на фермент була виявлена в аорті кролів [29, 30], в ендотелії капілярів головного мозку [38]. У деяких випадках спостерігали протилежний — інгібуючий ефект на фермент [12, 39, 56, 80]. Виявлено стимулюючу дію АНГ на Na^+, K^+ -АТФази в аорті [15] і кардіоміоцитах [16, 34], а інгібуючу — у висхідній петлі Генле і протоці нирки [12]. У проксимальних каналцях нирки спостерігали як активуючу [26, 75], так і інгібуючу [12, 17, 62] дію АНГ-II.

Нині немає пояснення такій різноспрямованій дії вазоконстрикторних ендотеліальних агентів на Na-насос. Можливо, що дія ЕТ і АНГ-II у регуляції активності Na-насоса пов'язана в першу чергу з їх різними фізіологічними функціями в ендотеліальних, гладеньком'язових та епітеліальних тканинах, зумовлена різним розподілом рецепторів ЕТ і АНГ-II і тканинною специфічністю внутрішньоклітинних реакцій, які активуються цими агентами. Аналіз відомих на цей час експериментальних даних дає можливість виділити деякі внутрішньоклітинні механізми, які визначають активуючу чи інгібаторну дію ЕТ і АНГ на Na^+, K^+ -АТФази.

Так, активуюча дія ЕТ і АНГ, як встановлено на ферменті аорти [30], кардіоміоцитів [16] і проксимальних каналців нирки [26], здійснюється опосередковано за допомогою взаємодії протеїнкінази С з її рецептором на мембрані і пов'язана з активацією Na-насоса та інших іонтранспортних систем [26], головним чином натрій-водневого обмінника [15, 20, 75], активацією притоку ззовні Na^+ у клітину. Внаслідок цього, підвищення вмісту внутрішньоклітинного Na^+ — $[Na]_i$ — може бути фактором такої дії на фермент ЕТ і АНГ. При цьому потрібно враховувати активуючу дію даних агентів на натрій-водневий антипорт в деяких тканинах, у тому числі міокарді [21]. Слід відмітити, що більшість прикладів активації Na^+, K^+ -АТФази, пов'язаної з підвищенням вмісту $[Na]_i$, свідчать про важливу роль не тільки натрій-водневого обмінника, але й протеїнкінази С у цьому механізмі.

Нещодавно проведені дослідження про вплив АНГ-II на активність Na-насоса кардіоміоцитів довели, що активація Na^+, K^+ -АТФази може здійснюватися також за допомогою регуляції чутливості ферменту до $[Na]_i$ [16, 34]. Внутрішньовенне введення кролям інгібітора ангіотензинперетворюючого фермента *in vivo* та *in vitro* призводить до підвищення активності Na-насоса в кардіоміоцитах, внаслідок чого підвищується спорідненість ферменту до Na^+ . Цей ефект АНГ-II також пов'язаний з активацією протеїнкінази С, що передбачає можливість існування певного механізму регуляції активності Na^+, K^+ -АТФази в катіонзв'язуючих центрах, на цитоплазма-

тичній поверхні клітини [16]. Подібне підвищення селективності ферменту до $[Na^+]_i$ спостерігали також й інші автори як *in vivo*, так і *in vitro* під час дії NO на Na-насос [77], що вірогідно, може бути одним із шляхів регуляції активності ферменту за фізіологічних умов.

У той же час інгібіторна дія ET-I та АНГ-II на Na^+, K^+ -АТФазу пов'язана з активацією фосфоліпази A_2 [12, 52] і зумовлена участю циклооксигеназних [39, 80], ліпоксигеназних [57, 62] та монооксигеназних [17, 55] продуктів метаболізму АК, причому в цих механізмах, як і в механізмі активації ферменту, також бере участь протеїнкіназа С. Відомо, що цитозольна фосфоліпаза A_2 , яку активують протеїнкінази, зокрема, протеїнкіназа С [54, 59], підвищує концентрацію $[Ca^{2+}]_i$ за допомогою рецепторзалежної активації певних типів G-білків [53]. Вона бере участь не тільки в механізмах вазоконстрикторної дії ET і АНГ-II [52], але й у регуляції іонного транспорту цими агентами [44].

Із наведеного вище видно, що протеїнкіназа С є важливою ланкою механізму регуляції активності Na-насоса ендотеліальними вазоконстрикторними агентами, які активують фосфоліпазу С. Однак невідомо, чи призводить активація протеїнкінази С ET і АНГ безпосередньо до її взаємодії з Na^+, K^+ -АТФазою і до підвищення фосфорилювання каталітичної активності α -субодиниці ферменту. За даними літератури неоднозначна роль протеїнкінази С у регуляції активності ферменту (описана активація, інгібування, а також відсутність ефекту) [15, 24].

Слід зазначити, що в механізмах дії протеїнкінази С на Na^+, K^+ -АТФазу виявлено деякі особливості, які потребують більш детального розгляду, оскільки деякі з них можуть бути пов'язані безпосередньо зі зниженням каталітичної активності Na^+, K^+ -АТФази внаслідок її фосфорилювання [49], з активацією процесів ендоцитозу, котрі ініціюються фосфорилюванням каталітично активної субодиниці ферменту, а також, як показано вище, з активацією фосфоліпази A_2 [19] і шляхів біосинтезу ейкозаноїдів [54]. Можливість безпосереднього впливу протеїнкінази С на Na^+, K^+ -АТФазу активність зумовлена тим, що фосфорилювання серину N-кінцевої ділянки α -субодиниці Na^+, K^+ -АТФази (Сер-23 ідентифікований як специфічний центр взаємодії α_1 -субодиниці Na^+, K^+ -АТФази щурів з протеїнкіназою С) поєднано з відповідними конформаційними змінами і в сусідніх цитоплазматичних сегментах білкової макромолекули, що призводить до зрушення конформаційної рівноваги ферменту в бік Na^+ -зв'язаної E_1P -конформації, яка супроводжується зниженням активності Na^+, K^+ -АТФази [46].

З активацією протеїнкінази С пов'язаний також механізм регуляції активності Na-насоса зміною його вмісту в мембрані. В цьому механізмі, який здійснюється за участю актинового цитоскелету, важливу роль відіграють процеси внутрішньоклітинного транспорту ферменту. Показано [19], що фосфорилювання Na^+, K^+ -АТФази за допомогою протеїнкінази С може призводити до активації ранніх стадій ендоцитозу ферменту та виділення його до внутрішньоклітинних компартментів (ендосом). Мембранна організація Na-насоса в клітині являє собою комплексну структуру, в якій каталітично активна субодиниця ферменту зв'язана з актином за допомогою деяких мембранних білків [50]. Робиться припущення, що дія структурних

білків актинового цитоскелету щодо Na-насоса відображається в регуляції механізмів його вбудовування в мембрану, оскільки стабілізація актинового цитоскелету усуває ефект ендоцитозу ферменту, який поєднаний з його фосфорилуванням протеїнкіназою С [19]. З активацією процесів ендоцитозу та внутрішньоклітинного транспорту ферменту пов'язане, можливо, порушення його функціонування при деяких патологічних станах організму. У клітинах проксимальних канальців нирки ішемія, як і різке зниження внутрішньоклітинного вмісту АТФ, супроводжується порушенням структури актинового цитоскелету і в той же час активацією внутрішньоклітинного транспорту за допомогою Na^+, K^+ -АТФази, внаслідок чого відбувається її перерозподіл з базолатеральної до апікальної мембрани клітини, що призводить до порушення залежних від Na^+ транспортних функцій епітелію [50].

Слід відмітити, що в регуляції активності Na-насоса, пов'язаної з активацією протеїнкінази С, можуть брати участь механізми, які включають активацію тирозинкінази і деяких інших протеїнкіназ, а також фосфатаз. У деяких випадках спостерігали зв'язок активації протеїнкінази С і підвищення вмісту $[\text{Ca}^{2+}]_i$ з цими механізмами, за допомогою яких опосередковується, зокрема, гіпертрофічна дія ЕТ і АНГ-II на міокард [63, 68]. Таким чином, існує можливість участі каскаду реакцій, які активує тирозинкіназа. Остання, як і протеїнкіназа С, виступає посередником фізіологічної дії цих агентів у регуляції активності Na-насоса. Нещодавно одержано дані, які підтверджують можливість фосфорилування й активації Na^+, K^+ -АТФази за допомогою тирозинкінази в проксимальних канальцях нирки [23], а також її участь у гіпоосмотичній стимуляції Na-насоса кардіоміоцитів [13].

Відомо, що деякі патологічні стани серцево-судинної системи (гіпертензія, серцева недостатність тощо) пов'язані зі зміною функціонування Na-насоса, однією з причин якого є порушення внутрішньоклітинних механізмів регуляції активності ферменту. Так, активація β -адренорецепторів і цАМФ-залежного каскаду реакцій [22] є однією з причин пригнічення Na^+, K^+ -АТФази за умов ішемії міокарда. Зниження активності ферменту зумовлено при цьому зменшенням числа убаїнзв'язувальних центрів у сарколемі серцевих м'язів [22, 67], що певним чином корелює з активацією цАМФ-залежних реакцій. Ішемічні ушкодження та порушення функцій різних тканин і органів зумовлені сукупною дією цілої низки факторів. Це підтверджують і дані наших досліджень про роль тромбоцитарного фактора (ТАФ) в інгібуванні Na-насоса за умов ішемії тонкої кишки [2]. ТАФ є одним із продуктів метаболізму ліпідів. Він вивільнюється ендотеліальними клітинами за умов активації фосфоліпази A_2 , є сильним вазоконстрикторним агентом і бере участь у порушеннях кардіо- та гемодинаміки в деяких патологічних станах [5, 9]. Зв'язування ТАФ з його рецепторами призводить до активації фосфоліпази С і протеїнкінази С, а його вазоконстрикторна дія зумовлена виходом Ca^{2+} із внутрішньоклітинного депо [5]. Нами показана рецепторопосередкована інгібіторна дія ТАФ на Na^+, K^+ -АТФазу активність у проксимальному та дистальному відділах тонкої кишки, в тканинах нирки та головного мозку. Блокатор рецепторів ТАФ BN 52021 значною мірою знижував інгібування ферменту за умов ішемії. [2]. Разом з тим усунування дії ТАФ за допомогою блокатора не викликає повно-

го відновлення Na^+, K^+ -АТФазної активності. Одержані нами дані дають можливість припустити, що дія ТАФ — не єдина причина зменшення ферментативної активності за умов ішемії тонкої кишки. Нині встановлено, що медіаторами пошкоджень функцій тканин і органів при серцевій недостатності, ішемії, інфаркту міокарда та інших патологічних станах організму є не тільки продукти метаболізму ліпідів — ТАФ, лейкотриєни та простагландини [5, 7, 9], катехоламіни [22]. Важливе значення має і стан (зокрема, активація) ренін-ангіотензинової системи та ендогенного убаїноподібного фактора — інгібітора Na^+, K^+ -АТФази в тканинах головного мозку [42, 43].

Таким чином, наші результати, як і дані інших авторів, свідчать, що за умов патологічних станів організму в регуляцію різних ферментних систем деяких органів і тканин, в тому числі і іонтранспортних, може включатися механізм одночасної та поєднаної дії деяких фізіологічно активних речовин різного походження, в тому числі і ендотеліальних, що і зумовлює комплексний характер механізмів, які діють на Na^+, K^+ -АТФазу.

Роль NO в регуляції активності Na-насоса

Одним з найбільш вивчених ендотеліальних факторів регуляції судинного тонуусу є ендогенна NO-синтаза ендотеліальних клітин [5, 25, 52], яка окиснює гуанідинову групу L-аргініну з утворенням кінцевих продуктів L-цитруліну та NO [48]. Значно меншою мірою вивчена роль NO в регуляції транспортних ферментів. Конститутивні форми NO-синтази (NOS-I і NOS-III, так звані нейрональна й ендотеліальна відповідно) є також Ca^{2+} - і кальмодулінзалежними та містять кальмодулінзв'язувану ділянку, яка знаходиться в зоні оксидазного та редуктазного доменів ферменту [48]. Цей факт пояснює його активацію Ca^{2+} -мобілізуючими агентами, агоністами деяких рецепторів, поєднаних із активацією фосфоліпази C, у тому числі ET [8, 25] і АНГ [52].

Дифундуючи з клітин ендотелію до гладеньком'язових, NO може призводити до широкого спектра фізіологічних ефектів, в тому числі регуляції активності мембранних транспортних ферментів, іонних каналів і обмінників. Роль NO як вазодилаторного агента опосередкована активацією цитозольної гуанілатциклази, збільшенням синтезу циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ) та наступною активацією цГМФ-залежного каскаду реакцій [5, 25, 70]. цГМФ і цГМФ-залежна протеїнкіназа — основні посередники фізіологічної дії NO. Функція останнього як вазодилаторного агента асоціюється зі зниженням вмісту $[\text{Ca}^{2+}]_i$, яке відбувається різними шляхами, що включають активацію натрій-кальцієвого обміну, фосфорилування фосфоламбану та активацію Ca^{2+} -АТФази саркоплазматичного ретикулума, інактивацію потенціалзалежних кальцієвих каналів плазматичної мембрани та деякі інші механізми [25, 52]. Є дані, які свідчать про те, що вазодилаторна дія NO значною мірою зумовлена також активацією Na^+, K^+ -АТФази [60, 73].

Певна взаємодія функціонування NO-синтазної системи і Na-насоса може проявлятися не тільки в короточасній, але й в тривалій регуляції судинного тонуусу та артеріального тиску, зокрема, на моделі гіпертензії,

яку створювали за допомогою блокади NO-синтази. Нещодавно показано розвиток гіпертензії після введення метилового ефіру N-нітро-L-аргініну (L-NAME), що супроводжується підвищенням концентрації $[Na^+]_i$ у кардіоміоцитах і пошкодженням функцій Na-насоса, внаслідок чого змінюється чутливість ферменту до Na^+ [77]. Таким чином, на прикладі цієї моделі, як і на інших [47, 81], одним із факторів розвитку гіпертензії є зниження Na^+, K^+ -АТФазної активності. Про те, що NO і його попередник L-аргінін можуть відігравати важливу роль у механізмах регуляції транспорту Na^+ через клітинні мембрани, свідчать і наші дані про підвищення активності Na^+, K^+ -АТФази в деяких тканинах за умов хронічного введення L-аргініну на фоні аліментарної гіперхолестеринемії у кролів [3].

Згідно з літературними даними, цГМФ-залежний механізм — один із основних механізмів регуляції за допомогою NO Na^+, K^+ -АТФазної активності. Водночас у різних тканинах виявляється як активуючий, так і інгібуючий вплив NO за допомогою цГМФ і цГМФ-залежної протеїнкінази на Na-насос [31, 32, 60, 73, 78]. Причини такої різноспрямованої дії NO нині ще мало зрозумілі. Можна виділити деякі механізми, які опосередковують активуючу та інгібуючу дію NO на Na-насос. Зокрема, одержані результати про специфічну дію цГМФ через цГМФ-залежну протеїнкіназу відносно різних ізоформ каталітично активної субодиниці Na^+, K^+ -АТФази: виявлено інгібуючу дію цГМФ-цГМФ-залежної протеїнкінази на α_1 -ізоформу та відсутність будь-якого ефекту щодо α_2/α_3 -ізоформ ферменту [58]. Можливо, ці дані певною мірою пояснюють інгібуючий ефект NO, виявлений в деяких випадках у епітеліальних тканинах, де має перевагу уабаїнрезистентна α_1 -ізоформа Na^+, K^+ -АТФази. Тоді як у кардіоміоцитах і гладеньком'язових тканинах, в яких превалюють уабаїнчутливі α_2/α_3 -ізоформи Na^+, K^+ -АТФази, цГМФ може не виявляти безпосередньої інгібуючої дії на фермент.

Дані літератури свідчать про те, що в регуляції активності Na-насоса за допомогою NO можуть брати участь деякі поєднані внутрішньоклітинні, з одного боку, і іонтранспортні, з іншого, механізми, безпосередньо не пов'язані з дією цГМФ на фермент. Показано активацію Na^+, K^+ -АТФази донорами NO в аорті, котра опосередкована в свою чергу активацією натрій-водневого обмінника [28]. Слід відзначити, що в проксимальних каналцях нирки виявлено таке опосередковане цГМФ інгибування натрій-водневого обмінника нітропрусидом натрію, донором NO [37, 61]. У інтактних клітинах це може зменшувати надходження ззовні Na^+ до клітини і пригнічувати активність Na^+, K^+ -АТФази у даних тканинах. Інгибуюча дія NO на Na^+, K^+ -АТФазу клітин проксимальних каналців нирки може також здійснюватися активацією фосфоліпази С і α -ізоформи протеїнкінази С [45]. Інколи дія NO може бути пов'язана з активацією чи інгибуванням синтезу ейкозаноїдів унаслідок безпосередньої взаємодії NO з ферментами каскаду АК (циклооксигеназою) [27] і цитохромом P-450 [71], що створює додаткові можливості різноспрямованої дії NO на Na-насос.

Аналізуючи різні регуляторні функції NO, слід враховувати те, що NO — високореактивна вільнорадикальна сполука, яка легко вступає в реакції з іншими вільнорадикальними утвореннями, металами змінної ва-

лентності, що входять до складу багатьох білків і ферментів (цитохромів, оксидоредуктаз, протеїнкіназ тощо) [27, 40]. Мішенями NO також можуть бути експоновані легкодоступні амінокислотні залишки цистеїну — сульфгідрильні групи (SH-групи). Показано, що взаємодія з SH-групами призводить до утворення S-нітрозотіолів і є важливим механізмом у регуляції активності деяких іонних каналів плазматичних мембран і може значною мірою опосередковувати вазодилаторну дію NO [40].

Відомо, що SH-групи беруть участь у проявленні каталітичної активності мембранних транспортних ферментів, в тому числі Na^+, K^+ -АТФази [1]. Це дає підставу говорити про можливість безпосередньої регуляції активності цього ферменту за допомогою вільного радикала NO або продуктами його перетворення.

Регуляція активності Na^+, K^+ -АТФази ейкозаноїдами

Наведені факти свідчать про існування тканинної специфічності регуляторних механізмів, які впливають на активність Na-насоса, а також про участь ейкозаноїдів у різних внутрішньоклітинних процесах, які ініціюються вазоактивними агентами, що зумовлено активацією фосфоліпази A_2 та вивільненням самої АК чи продуктів її біохімічних перетворень. Останні утворюються внаслідок дії трьох ферментних систем — циклооксигеназної, ліпоксигеназної та системою цитохрому P-450, які призводять до утворення простагландинів і тромбоксанів, лейкотриєнів, а також епоксидних і гідроксильованих похідних АК-епоксиейкозатриєнових кислот (ЕЕТ) і гідроксиейкозатетраєнових кислот (ГЕТЕ), які являють собою широкий клас біологічно активних сполук під загальною назвою ейкозаноїди [5–7]. Спектр біологічної активності останніх дуже широкий; багато з них мають яскраво виражену вазоконстрикторну чи вазодилаторну дію, що загалом визначає особливу роль цих сполук у регуляції судинного тонуусу.

Циклооксигеназні та ліпоксигеназні продукти метаболізму АК (простагландини, тромбоксани, лейкотриєни) є активними учасниками внутрішньоклітинних процесів, які включають активацію фосфоліпази C та цАМФ-залежних механізмів [5, 25, 52]. Вазодилаторна дія простагландину E_2 (ПГЕ_2) також пов'язана з цАМФ. Водночас залежно від типу рецепторів ПГЕ_2 , він може діяти як вазоконстрикторний агент за допомогою підвищення вмісту $[\text{Ca}^{2+}]_i$ та активації протеїнкінази C [33, 52]. На відміну від вазодилаторних простагландинів, тромбоксан A_2 , його попередник простагландин H_2 та ізопростани — сильні Ca^{2+} -мобілізуючі вазоконстрикторні агенти, які також беруть участь у ендотелійзалежних реакціях, що ініціюються АНГ-II, ЕТ та іншими вазоактивними речовинами, котрі є, зокрема, факторами розвитку гіпертензії в різних її моделях [5, 8, 25, 52].

У кардіоміоцитах, ендотеліальних і гладеньком'язових клітинах утворюється значна кількість епоксигеназних і монооксидазних метаболітів АК — 5,6-, 8,9-, 11,12-, 14,15-ЕЕТ, а також 19- і 20-ГЕТЕ [6]. Ці продукти спричиняють судинорозширювальну дію. Зокрема, деякі ЕЕТ ідентифіковані як ендотеліальний гіперполяризуєчий фактор [25, 52]. Сильну вазоконстрикторну дію зумовлює 20-ГЕТЕ, яка бере участь у різних внутрішньоклітинних реакціях, у тому числі в процесі активації фосфоліпази A_2 . Вазо-

констрикторна та вазодилататорна дія ЕЕТ і ГЕТЕ визначається їх здатністю ініціювати в багатьох випадках протилежно направлені процеси. Так, вазодилататорна дія 5,6-ЕЕТ зумовлена активацією кальційзалежних калієвих каналів [25], в той час як 20-ГЕТЕ інгібує кальційзалежні калієві канали гладеньком'язових клітин і підвищує провідність кальцієвих каналів L-типу [55, 71, 72]. Вазоконстрикторна дія 20-ГЕТЕ, як і інших вазоконстрикторних агентів, у тому числі АНГ-II і ЕТ-I, спричинена активацією тирозинкінази та протеїнкінази С [53, 63, 68, 72].

Незважаючи на те, що значна кількість даних свідчить про участь метаболітів АК у регуляції активності Na-насоса гормонами та вазоактивними речовинами різної природи [12], внутрішньоклітинні механізми їх дії на фермент недостатньо вивчені. Відомі на цей час експериментальні дані доводять в основному інгібуючий вплив ейкозаноїдів на Na^+, K^+ -АТФазу. Так, в експериментальних моделях різних патологічних станів, зокрема гіпертензії, виявлено активуючу дію індометацину (інгібітора циклооксигенази) і хлориду кобальту (інгібітора цитохрому Р-450) на Na^+, K^+ -АТФазу [18, 81]. В останні роки достатньо широко продемонстровано значення ейкозаноїдів як посередників інгібуючої дії гормонів і вазоактивних речовин на Na-насос у тканинах нирки, де вони відіграють важливу роль не тільки в регуляції судинного тонуусу та гемодинаміки, але й в регуляції епітеліального транспорту.

Використання інгібіторів відповідних ферментів підтвердило участь продуктів циклооксигеназного шляху перетворення АК, зокрема ПГЕ₂, в інгібуючій дії ЕТ-I на Na^+, K^+ -АТФази нирки [80] і продуктів ліпоксигеназного шляху, які опосередковують діуретичний і натрійуретичний ефекти ЕТ і АНГ-II, а також інгібуючу дію цих агентів на Na^+, K^+ -АТФази проксимальних каналців нирки [57, 62]. Монооксигеназні та епоксигеназні метаболіти АК, які утворюються ферментами низки цитохромів Р-450, у тому числі найбільш вивчених 20-ГЕТЕ і 5,6-ЕЕТ, також є посередниками дії ЕТ і АНГ-II на транспортну функцію нирки; при цьому виявляється інгібуючий вплив на Na-насос [17, 55, 62]. Цілком не можна пояснити пригнічення активності Na^+, K^+ -АТФази ейкозаноїдами відомими тепер внутрішньоклітинними реакціями, спричиненими цими агентами, наприклад здатністю вазоконстрикторних метаболітів АК активувати фосфоліпазу С, протеїнкіназу С і тирозинкіназу, а вазодилататорних — активувати цАМФ-залежні процеси. Слід відзначити, що в механізмах дії ейкозаноїдів на Na-насос виявляються деякі специфічні особливості.

Доведено, що метаболіти АК можуть впливати на активність Na-насоса за допомогою активації рецепторів і відповідних внутрішньоклітинних реакцій. Зокрема, вивчення механізмів дії ПГЕ₂ на транспорт Na^+ у протоці нирки продемонструвало, що інгібування Na^+, K^+ -АТФази опосередковано рецепторами ПГЕ₂, що пов'язано з підвищенням вмісту $[\text{Ca}^{2+}]_i$ й активацією протеїнкінази С [33, 36]. Рецепторопосередкована інгібуюча дія тромбоксану В₂ на Na^+, K^+ -АТФази відбувається за допомогою активації цАМФ-залежних реакцій [12].

Інгібіторами ферменту є також продукти перетворення АК системою цитохромів Р-450, зокрема 20-ГЕТЕ, причому спостерігається певний си-

нергізм інгібуючої дії протеїнкінази С і 20-ГЕТЕ на Na-насос [53, 54]. Посередниками інгібуючої дії ГЕТЕ і ЕЕТ на фермент можуть бути також продукти циклооксигеназного шляху перетворення АК. Механізм дії 5,6-ЕЕТ на Na^+ , K^+ -АТФази залежить від підвищення вмісту $[\text{Ca}^{2+}]_i$ і, крім того, від активації циклооксигеназного синтезу ПГЕ₂ [64].

Здатність активувати циклооксигеназу виявлена для 5,6-ЕЕТ, а також 16-, 18-, 19- і 20-ГЕТЕ і пов'язана з тим, що деякі з цих продуктів, особливо 5,6-ЕЕТ, можуть бути субстратами циклооксигеназного перетворення в ПГЕ₂ і їхні біологічно активні похідні [17, 64]. Цей факт пояснює участь простагландинів у вазодилататорній дії 5,6-ЕЕТ і деяких ГЕТЕ [17], а також, можливо, і в інгібуючій дії ГЕТЕ на Na-насос.

Особливістю ЕЕТ і ГЕТЕ є також селективність біологічної дії їх структурних ізомерів, що проявляється, зокрема, в їх впливі на активність Na^+ , K^+ -АТФази. У ряду 5,6-, 8,9-, 11,12-, 14,15-ЕЕТ активність відносно Na^+ , K^+ -АТФази була притаманна лише 5,6-ЕЕТ, причому його стереоізомери також значно відрізнялися за своєю активністю [64]. Результати вивчення стереоспецифічності біологічної активності ГЕТЕ [17] також виявили її селективність не тільки щодо впливу структурних ізомерів на Na-насос, але й в вазодилататорній їх дії в ниркових артеріях, опосередкованій активацією циклооксигенази. Однак у той час як найсильніший вазодилататорний ефект виявляли 16(R)- і 18(R)-ГЕТЕ, найбільш вираженими інгібіторами Na^+ , K^+ -АТФази були 16(S)- і 17(S)-ГЕТЕ, котрі мають достатньо помірну судинну дію [17]. Ці факти доводять різнобічність шляхів активації циклооксигенази та вазодилататорної дії ГЕТЕ в ниркових артеріях та їх вплив на активність Na-насоса в клітинах проксимальних каналців нирки, а також на існування деяких специфічних механізмів, за рахунок яких здійснюється взаємодія ряду ейкозаноїдів з Na^+ , K^+ -АТФазою.

Можливо, що такі специфічні механізми можуть бути пов'язані зі здатністю ЕЕТ і ГЕТЕ, а також іншими похідними АК, вбудовуватися в мембранні фосфоліпіди [6] і тим самим здійснювати вплив на певні компоненти клітинних мембран, які зв'язані з регуляцією активності Na-насоса. Може відбуватися і безпосередня дія ейкозаноїдів на фізико-хімічні характеристики ліпідних бішарів клітинної мембрани. Зокрема, виявили ушкоджуючу дію лейкотриєнів на структуру ендотелію коронарних судин, що проявляється у порушенні його ультраструктури, розширенні міжендотеліальних контактів, активації мікровезикулярного транспорту [5]. Оскільки каталітична активність Na^+ , K^+ -АТФази значною мірою визначається ліпідним оточенням ферменту [1], можна допустити існування механізму не лише короткострокової рецепторопосередкованої дії на фермент внаслідок модифікації мембранних структур, але й довгострокової дії на функціональний стан як самих клітинних мембран, так і пов'язаних з ними іонтранспортних ферментних систем.

Деякі аспекти фізіологічної дії ендогенного убаїноподібного фактора

Убаїноподібний фактор (УПФ) більш як два десятиріччя привертає увагу вчених. Він являє собою низку сполук ендогенного походження — струк-

турних елементів убаїну, наявних у тканинах організму людини та тварин [14]. Інтерес до УПФ зумовлений у першу чергу тим, що деякі патологічні стани серцево-судинної системи пов'язані з наявністю цього фактора в крові [47]. Відомо, що Na^+, K^+ -АТФаза є рецептором серцевих глікозидів і містить убаїнзв'язувальний центр з високою спорідненістю до убаїну та до інших кардіотонічних стероїдів [1, 4]. Це дає можливість для існування відповідного фізіологічного механізму регуляції активності Na -насоса за допомогою УПФ. Молекулярний механізм дії убаїну на фермент (зв'язування з α -субодиницею Na^+, K^+ -АТФази з зовнішнього боку мембрани, яке блокує транспортну та гідролітичну активність ферменту), а також механізм його позитивної інотропної дії на міокард детально представлені в оглядах [4, 14]. Враховуючи різну спорідненість ізоформ Na^+, K^+ -АТФази до убаїну, можна зробити припущення, що фізіологічна дія ендogenous УПФ буде виявлятися в першу чергу в тих тканинах, в яких експресована убаїнчутлива α_2/α_3 -ізоформа ферменту, тобто в кровоносних судинах, серці та в окремих ділянках головного мозку [4, 14]. Таке припущення певним чином корелює з гіпотезою про роль УПФ у патогенезі гіпертензії, яку висловили ще в 70-ті роки, але тільки нещодавно одержані достовірні дані на користь її підтвердження [14, 20]. Крім того, як показано, роль УПФ у розвитку патології серцево-судинної системи опосередкована участю певних структур центральної нервової системи і, можливо, пов'язана з його дією на убаїнчутливу ізоформу Na^+, K^+ -АТФази тканини головного мозку. Вирішальне значення в розвитку патологічних станів набуває синергізм дії УПФ і ренінаангіотензинової системи головного мозку (гіпоталамуса), що виявляється в активації β -адренергічної системи та пошкодженні функції міокарда при серцевій недостатності [42] і післяінфарктному стані [43], а також у розвитку деяких форм гіпертензії [35]. Про сукупність дії УПФ і АНГ-II у цих процесах свідчить той факт, що активація β -адренергічної системи і пов'язана з цим дисфункція міокарда усувалася введенням блокатора рецепторів АНГ-II (AT_1) чи убаїнзв'язувальних пептидів [35, 42, 43]. При дослідженні взаємодії УПФ і АНГ-II спостерігали не лише розвиток гіпертензії після хронічного введення убаїну [47], але й на підвищення вмісту УПФ у крові у відповідь на внутрішньоцеребральне введення гіпертонічних розчинів NaCl [35]. Доведено, що саме УПФ є посередником створюваного гіпертензивного ефекту, оскільки введення убаїнзв'язувальних антитіл усувало розвиток гіпертензії. Виявлена також певна ділянка центральної нервової системи, яка відповідає за гіпертензивний ефект убаїну [66, 76]. В свою чергу УПФ стимулює секрецію вазоактивних гормонів, таких, наприклад, як ЕТ і АНГ-II, які відіграють важливу роль у патогенезі гіпертензії. Встановлено, що фізіологічні концентрації УПФ стимулюють також ренін-ангіотензинову систему і підвищують вміст АНГ-II у тканинах головного мозку та кори надниркових залоз [35, 74], а також стимулюють секрецію ЕТ клітинами ендотелію [79].

Виявлені й інші фактори — інгібітори Na^+, K^+ -АТФази, котрі відповідають на дію гіпертонічних розчинів хлористого натрію, природа яких поки що не встановлена. Зокрема, нами було показано вивільнення ендogenous інгібіторів Na^+, K^+ -АТФази клітинами епітелію тонкого кишечника при дії

на них осмотичним подразненням гіпертонічними розчинами хлористого натрію *in vivo* та *in vitro* [10, 11]. Це свідчить про можливість участі різних органів і тканин у вивільненні інгібіторів Na-насоса.

Таким чином, наведені вище дані відкривають новий аспект у взаємодії УПФ і ендотеліальних вазоконстрикторних агентів ЕТ та АНГ-II, що дозволить краще зрозуміти уявлення про роль УПФ у розвитку патології серцево-судинної системи, пов'язаної з його участю в пошкодженні α - і β -адренергічних механізмів регуляції судинного тонуусу та функцій міокарда. Ця роль УПФ опосередкована участю центральної нервової системи і, можливо, здійснюється регуляцією активності убаїнчутливої ізоформи Na^+, K^+ -АТФази в певних ділянках головного мозку.

Висновок

Аналіз наведеного матеріалу дає підставу зробити висновки про те, що ендотеліальні вазоактивні речовини істотно впливають на активність Na-насоса та є його ендogenous регуляторами, які відіграють певну роль у порушенні функціонування Na-насоса при різних патологічних станах — гіпертензії, серцевій недостатності тощо. Ці ушкодження зумовлені спряженою дією ендотеліальних речовин і цілої низки факторів, включаючи УПФ — ендogenous інгібітора Na-насоса.

Не зовсім з'ясованими залишаються внутрішньоклітинні механізми, за допомогою яких здійснюється взаємодія цих чинників як за умов розвитку патології серцево-судинної системи, так і регуляції активності Na-насоса, а тим більше — їх тканинна специфічність, незважаючи на значний прогрес у їх розумінні. Разом з тим більш детальне вивчення цих процесів дозволить не лише глибше зрозуміти механізми функціонування Na-насоса в різних за фізіологічним призначенням тканинах, але й виявити деякі шляхи розвитку патологічних станів, в тому числі і серцево-судинної системи, а також деякі можливості їх усунення за допомогою корекції фармакологічними речовинами.

G. L. Vavilova, O. V. Akopova, V. F. Sagach

ENDOTHELIAL FACTORS IN THE REGULATION OF THE Na^+, K^+ -ATPase ACTIVITY

Endothelial vasoactive agents such as endothelin, angiotensin, nitric oxide and others are essential in regulation of the Na-pump functions in vascular and others tissues. In our review the intracellular mechanisms of activating and inhibition of the Na^+, K^+ -ATPase by endothelial vasoactive agents are discussed. In the control of vascular tone and heart function as well as the regulation of the Na-pump endothelial vasoactive agents act individually or in close interaction with other physiologically active substances including the ouabain-like factor, endogenous inhibitor of the Na-pump. Some aspects ouabain-like factor physiological action are under the discussion. Recent advances in study and comprehension of intracellular mechanisms the mediating role of endothelial agents in Na-pump regulation are reviewed also.

*A. A. Bogomoletz Institute of Physiology
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Болдырев А.А., Мельгунов В.И.* Транспортные АТФазы. Итоги науки и техники. Биофизика. — М.: ВИНТИ, 1985. — Т.17. — 241 с.
2. *Вавилова Г.Л., Прокопенко О.Н., Харламова О.Н., Яременко М.С., Сагач В.Ф.* Роль тромбоцитаактивирующего фактора в ингибировании Na^+, K^+ -АТФазы в различных тканях после ишемии и реперфузии тонкой кишки // Укр. биохим. журн. — 1996. — **68**, №2. — С.99-108.
3. *Вавилова Г.Л., Прокопенко О.М., Харламова О.М., Сагач В.Ф.* Участь L-аргініну в корекції активності мембранних транспортних ферментів Na^+, K^+ , Ca^{2+} - та Na^+ -АТФаза за умов експериментальної гіперхолестеринемії // Фізіол. журн. — 2000. — **46**, № 1. — С.25-31.
4. *Капля А.А., Кравцов А.В.* Молекулярные механизмы рецепции сердечных гликозидов Na^+, K^+ -АТФазой // Успехи совр. биологии. — 1999. — **119**, №1. — С.84-94.
5. *Мойбенко О.О., Сагач В.Ф., Шаповал Л.М. та ін.* Роль ендотелію та біологічно активних речовин ендотеліального походження в регуляції кровообігу і діяльності серця // Фізіол. журн. — 1997. — **43**, №1-2. — С.3-18.
6. *Небольсин В.Е., Кржечковская В.В., Желтухина Г.А., Евстигнеева Р.П.* Роль системы цитохрома P-450 в метаболизме полиненасыщенных жирных кислот. Биологическое действие метаболитов // Успехи совр. биологии. — 1999. — **119**, № 1. — С.70-83.
7. *Сагач В.Ф.* Лейкотриены и сердечно-сосудистая система // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1986. — №1. — С.84-89.
8. *Сагач В.Ф.* Ендотелін і серцево-судинна система // Фізіол. журн. — 1988. — **44**, №1-2. — С.103-111.
9. *Сагач В.Ф., Дмитриева А.В.* Роль тромбоцит-активирующего фактора в развитии нарушений кровообращения при постишемическом шоке // Там же. — 1990. — **36**, №4. — С.10-17.
10. *Яременко М.С., Прокопенко О.Н., Харламова О.Н., Вавилова Г.Л.* Осмотические воздействия на Na, K -насос эпителия тонкой кишки // Физиол. журн. им.И.М.Сеченова. — 1992. — **78**, №2. — С.99-108.
11. *Яременко М.С., Харламова О.М.* Іончутливі ендогенні регулятори Na^+, K^+ -АТФази, одержані з епітелію тонкої кишки щура // Укр. биохим. журн. — 1998. — **70**, №4. — С.33-41.
12. *Bertorello A.M., Katz A.I.* Short-term regulation of renal $\text{Na}-\text{K}-\text{ATPase}$ activity: physiological relevance and cellular mechanisms // Amer. J. Physiol. — 1993. — **265**. — P.F743-F755.
13. *Bewick N.L., Fernandes C., Pitt A.D., Rasmussen H.H., Whalley D.W.* Mechanisms of Na^+-K^+ pump regulation in cardiac myocytes during hyposmolar swelling // Ibid. — 1999. — 276. — P.C1091-C1099.
14. *Blaustein M.P.* Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca^{2+} stores and cell responsiveness // Ibid. — 1993. — **264**. — P. C1367-C1387.
15. *Brock T.A., Lewis L.J., Smith J.B.* Angiotensin increases Na^+ entry and Na^+/K^+ pump activity in cultures of smooth muscle from rat aorta // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1982. — **79**. — P.1438-1442.
16. *Buhagiar K.A., Hansen P.S., Gray D.F et al.* Angiotensin regulates the selectivity of the Na^+-K^+ pump for intracellular Na^+ // Amer. J. Physiol. — 1999. — **277**. — P.C461-C468.
17. *Carroll M.A., Balazy M., Margiotta P. et al.* Cytochrome P-450-dependent HETEs: profile of biological activity and stimulation by vasoactive peptides // Ibid. — 1996. — **271**. — P.R863-R869.
18. *Cordova H.R., Kokko J.P., Marver D.* Chronic indomethacin increases rabbit cortical collecting tubule Na^+-K^+ -ATPase activity // Ibid. — 1989. — **256**. — P.F570-F576.
19. *Chibalin A.V., Pedemonte C.H., Katz A.I. et al.* Phosphorylation of the catalytic α -subunit constitutes a triggering signal for Na^+-K^+ -ATPase endocytosis // J. Biol. Chem. — 1998. — **273**. — P.8814-8819.

20. O'Donnell M.E., Owen E. Regulation of ion pumps and carriers in vascular smooth muscle // *Physiol. Rev.* — 1994. — №3. — P.683-721.
21. Dostal D.E., Baker K.M. Angiotensin and endothelin. Messengers that couple ventricular stretch to the Na^+/H^+ exchanger and cardiac hypertrophy // *Circulat. Res.* — 1998. — **83**. — P.870-873.
22. Fan T.-H. M., Frantz R.P., Elam H. et al. Reductions of myocardial Na-K-ATPase activity and ouabain binding sites in heart failure: prevention by nadolol // *Amer. J. Physiol.* — 1993. — **265**. — P.H2086-H2093.
23. Féraillé E., Carranza M.L., Rousselot M., Favre H. Modulation of Na^+, K^+ -ATPase activity by a tyrosine phosphorylation process in rat proximal convoluted tubule // *J. Physiol. (Lond.)*. — 1997. — **498**. — P.99-108.
24. Feschenko M.S., Sweadner K.J. Phosphorylation of Na,K-ATPase by protein kinase C at Ser 18 occurs in intact cells but does not result in direct inhibition of ATP hydrolysis // *J. Biol. Chem.* — 1997. — **272**. — P.17726-17733.
25. Furchgott R.F., Vanhoutte P.M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors // *FASEB J.*, 1989. — **3**. — P.2007-2018.
26. Garvin J.L. Angiotensin stimulates bicarbonate transport and Na^+/K^+ ATPase in rat proximal straight tubules // *J. Amer. Soc. Nephrol.* — 1991. — **1**. — P.1146-1152.
27. Goodwin D.C., Landino L.M., Marnett L.J. Effects of nitric oxide and nitric oxide-derived species on prostaglandin endoperoxide synthase and prostaglandin biosynthesis // *FASEB J.* — 1999. — **13**. — P.1121-1136.
28. Gupta S., McArthur C., Grady Ch., Ruderman N.B. Stimulation of vascular Na^+/K^+ -ATPase activity by nitric oxide: a cGMP-independent effect // *Amer. J. Physiol.*, 1994. — **266**. — P.H2146-H2151.
29. Gupta S., McArthur C., Grady Ch., Ruderman N.B. Role of endothelium-derived nitric oxide in stimulation of Na^+/K^+ -ATPase activity by endothelin in rabbit aorta // *Ibid.* — 1994. — **266**. — P.H577-H582.
30. Gupta S., Ruderman N.B., Cragoe E.J.Jr., Sussman I. Endothelin stimulates Na^+/K^+ -ATPase activity by a protein kinase C-dependent pathway in rabbit aorta // *Ibid.* — 1991. — **261**. — P.H38-H45.
31. Gupta S., Sussman I., McArthur C.S. et al. Endothelium-dependent inhibition of Na,K-ATPase activity in rabbit aorta by hyperglycemia: possible role of endothelium-derived nitric oxide // *J. Clin. Invest.* — 1992. — **900**. — P.727-732.
32. Guzman N.J., Fang M.-Z., Tang S.S. et al. Autocrine inhibition of Na^+/K^+ -ATPase by nitric oxide in mouse proximal tubule epithelial cells // *Ibid.* — 1995. — **95**. — P.2083-2088.
33. Hebert R.L., Jacobson H.R., Fredin D., Breyer M.D. Evidence that separate PGE_2 receptors modulate water and sodium transport in rabbit cortical collecting duct // *Amer. J. Physiol.* — 1993. — **265**. — P.F643-F650.
34. Hool L.C., Whalley D.W., Doohan M.M., Rasmussen H.H. Angiotensin-converting enzyme inhibition, intracellular Na^+ , and Na^+/K^+ pumping in cardiac myocytes // *Ibid.* — 1995. — **268**. — P.C366-C375.
35. Huang B.S., Leenen F.H.H. Sympathoexcitatory and pressor responses to increased brain sodium and ouabain are mediated via brain Ang II // *Ibid.* — 1996. — **270**. — P.H275-H280.
36. Jabs K., Zeidel M.L., Silva P. Prostaglandin E_2 inhibits Na^+/K^+ -ATPase activity in the inner medullary collecting duct // *Ibid.* — 1989. — **257**. — P.F424-F430.
37. Kang D.G., Kim J.W., Lee J. Effects of nitric oxide synthesis inhibition on the Na,K-ATPase activity in the kidney // *Pharmacol. Res.* — 2000. — **41**. — P.121-125.
38. Kawai N., Yamamoto T., Yamamoto H., McCarron R.M., Spartz M. Endothelin 1 stimulates Na^+/K^+ -ATPase and $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ -cotransport through ET_A receptors and protein kinase C-dependent pathway in cerebral capillary endothelium // *J. Neurochem.* — 1995. — **65**. — P.1588-1596.
39. Kramer H.J., Meyer-Lehnert H., Stelkens H., Backer A., Wanning C. Endothelin: an endogenous sodium transport inhibitor? (Abstract) // *Kidney Int.* — 1989. — **35**. — P. 314.

40. *Lander H.M.* An essential role for free radicals and derived species in signal transduction // *FASEB J.* — 1997. — **11**. — P.118-124.
41. *Laskey R.E., Adams D.J., Johns A., Rubanyi G.M., Van Breemen C.* Membrane potential and Na,K pump activity modulate resting and bradykinin-stimulated changes in cytosolic free calcium in cultured endothelial cells // *J. Biol. Chem.*, 1990. — **265**. — P.2613-2619.
42. *Leenen F.H.H., Huang B.S., Yu H., Yuan B.* Brain “ouabain” mediates sympathetic hyperactivity in congestive heart failure // *Circulat. Res.* — 1995. — **77**. — P.993-1000.
43. *Leenen F.H.H., Yuan B., Huang B.S.* Brain “ouabain” and angiotensin II contribute to cardiac dysfunction after myocardial infarction // *Amer. J. Physiol.* — 1999. — **277**. — P.H1786-H1792.
44. *Li L., Wang Y.P., Capparelli A.W., Jo O.D., Yanagawa N.* Effect of luminal angiotensin II on proximal tubule fluid transport: role of apical phospholipase A₂ // *Ibid.* — 1994. — **266**. — P.F202-F209.
45. *Liang M., Knox F.G.* Nitric oxide activates PKC alpha and inhibits Na⁺-K⁺-ATPase in opossum kidney cells // *Ibid.* — 1999. — **277**. — P.F859-F865.
46. *Logvinenko N.S., Dulubova I., Fedosova N. et al.* Phosphorylation by protein kinase C of serine-23 of the α-1 subunit of rat Na⁺,K⁺-ATPase affects its conformational equilibrium // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* — 1996. — **93**. — P.9132-9137.
47. *Manunta P., Rogowski A.C., Hamilton B.P., Hamlyn J.M.* Ouabain-induced hypertension in the rat: relationships among plasma and tissue ouabain and blood pressure // *J. Hypertens.* — 1994. — **12**. — P.549-560.
48. *Marletta M.A.* Nitric oxide synthase structure and mechanism // *J. Biol. Chem.* — 1993. — **268**. — P.12231-12234.
49. *Middleton J.P., Khan W.A., Collingsworth G., Hannun Y.A., Medford R.M.* Heterogeneity of protein kinase C-mediated rapid regulation of Na/K ATPase in kidney epithelial cells // *Ibid.* — 1993 — **268**. — P.15958-15962.
50. *Molitoris B.A.* Na⁺-K⁺-ATPase that redistributes to apical membrane during ATP depletion remains functional // *Amer. J. Physiol.* — 1993. — **265**. — P.F693-F697.
51. *Mulvany M.J., Aalkrj C., Petersen T.T.* Intracellular sodium, membrane potential, and contractility of rat mesenteric small arteries // *Circulat. Res.* — 1984. — **54**. — P. 740-749.
52. *Navar L.G., Inscho E.W., Majid D.S.A. et al.* Paracrine regulation of the renal microcirculation // *Physiol. Rev.* — 1996. — **76**. — P.425-536.
53. *Nowicki S., Chen S.L., Aizman O. et al.* 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid (20 HETE) activates protein kinase C: role in regulation of rat renal Na,K-ATPase // *J. Clin. Invest.*, — 1997. — **99**. — P.1224-1230.
54. *Ominato M., Satoh T., Katz A.I.* Regulation of Na-K-ATPase activity in the proximal tubule: role of the protein kinase C pathway and of eicosanoids // *J. Membr. Biol.* — 1996. — **152**. — P.235-243.
55. *Oyekan A.O., McGiff J.C.* Cytochrome P-450-derived eicosanoids participate in the renal functional effects of ET-1 in the anesthetised rat // *Amer. J. Physiol.* — 1998. — **274**. — P.R52-R61.
56. *Perez-Vizcaino F., Cogolludo A., Tamargo J.* Modulation of arterial Na⁺-K⁺-ATPase-induced [Ca²⁺]_i reduction and relaxation by norepinephrine, ET-I, and PMA // *Ibid.* — 1999. — **276**. — P.H651-H657.
57. *Perico N., Cornejo R.P., Benigni A. et al.* Endothelin induces diuresis and natriuresis in the rat by acting on proximal tubular cells through a mechanism mediated by lipoxygenase products // *J. Amer. Soc. Nephrol.* — 1991. — **2**. — P.57-69.
58. *Pontiggia L., Winterhalter K., Gloor S.M.* Inhibition of Na,K-ATPase activity by cGMP is isoform-specific in brain endothelial cells // *FEBS Lett.* — 1998. — **436**. — P.466-470.
59. *Rao G.N., Lassegue B., Alexander R.W., Griendlung K.K.* Angiotensin II stimulates phosphorylation of high molecular mass cytosolic phospholipase A₂ in vascular smooth muscle cells // *Biochem. J.* — 1994. — **299**. — P.197-201.

60. *Rappaport R.M., Schwartz K., Murad F.* Effects of sodium-potassium pump inhibitors and membrane depolarising agents on sodium nitroprusside-induced relaxation and cyclic guanosine monophosphate accumulation in rat aorta // *Circulat. Res.* — 1985. — **57**. — P.164-170.
61. *Roczniak A., Burns K.D.* Nitric oxide stimulates guanylate cyclase and regulates sodium transport in rabbit proximal tubule // *Amer. J. Physiol.* — 1996. — **270**. — P.F106-F115.
62. *Romero M.F., Madhun Z.T., Hopfer U., Douglas J.G.* An epoxygenase metabolite of arachidonic acid 5,6-epoxyeicosatrienoic acid mediates angiotensin-induced natriuresis in proximal tubular epithelium // *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res.* — 1991. — **21**. — P.205-208.
63. *Sadoshima J., Qiu Z., Morgan J.P., Izumo S.* Angiotensin II and other hypertrophic stimuli mediated by G-protein coupled receptors activate tyrosine kinase, mitogen activated protein kinase, and 90-kD S6 kinase in cardiac myocytes. The critical role of Ca²⁺-dependent signaling // *Circulat. Res.* — 1995. — **76**. — P.1-15.
64. *Sakairi Y., Jacobson H.R., Noland T.D. et al.* 5,6-EET inhibits ion transport in collecting duct by stimulating endogenous prostaglandin synthesis // *Amer. J. Physiol.* — 1995. — **268**. — P.F931-F939.
65. *Sanchez-Ferrer C.F., Fernandez-Alfonso M.S., Ponte A. et al.* Endothelial modulation of the ouabain-induced contraction in human placental vessels // *Circulat. Res.* — 1992. — **71**. — P.943-950.
66. *Shah J., Landhyala B.S.* Physiological significance of Na⁺/K⁺-ATPase activity in the central nervous system and endogenous sodium pump inhibitors in the neural regulation of arterial blood pressure // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 1993. — **22**, Suppl. 2. — P.13-15.
67. *Shattock M.J., Eaton P., Brooks G., Li J.-M.* Ischemia-induced translocation of the Na/K pump away from the sarcolemma in the isolated rat heart // *Circulation.* — 1997. — **96**, Suppl.I. — Abstract I—P.57.
68. *Simonson M.S., Herman W.H.* Protein kinase C and protein tyrosine kinase activity contribute to mitogenic signaling by Endothelin-I // *J. Biol. Chem.* — 1993. — **268**. — P.9347-9357.
69. *Stewart L., Hamilton C., Ingwall J. et al.* Vascular smooth muscle response to ouabain: relation of tissue Na⁺ to the contractile response // *Circulat. Res.* — 1993. — **73**. — P.1113-1120.
70. *Stone J.R., Marletta M.A.* Spectral and kinetic studies on the activation of soluble guanylate cyclase by nitric oxide // *Biochemistry.* — 1996. — **35**. — P.1093-1099.
71. *Sun Ch.-W., Alonso-Galicia M., Reza Taheri M., Falck J.R., Harder D.R.* Nitric oxide — 20-hydroxyeicosatetraenoic acid interaction in the regulation of K⁺ channel activity and vascular tone in renal arterioles // *Circulat. Res.* — 1998. — **83**. — P.1069-1079.
72. *Sun C.W., Falck J.R., Harder D.R., Roman R.J.* Role of tyrosine kinase and PKC in the vasoconstrictor response to 20-HETE in renal arterioles // *Hypertension.* — 1999. — **33**. — P.414-418.
73. *Tamaoki J., Tagaya E., Nishimura K., Isono K., Nagai A.* Role of Na⁺-K⁺-ATPase in cyclic GMP-mediated relaxation of canine pulmonary artery smooth muscle cells // *Brit. J. Pharmacol.* — 1997. — **122**. — P.112-116.
74. *Tamura M., Piston D.W., Tani M. et al.* Ouabain increases aldosterone release from bovine adrenal glomerulosa cells: role of renin-angiotensin system // *Amer. J. Physiol.* — 1996. — **270**. — P. E27-E35.
75. *Thekkumkara T.J., Cookson R., Linas S.L.* Angiotensin (AT_{1A}) receptor-mediated increases in transcellular sodium transport in proximal tubule cells // *Ibid.* — 1998. — **274**. — P.F897-F905.
76. *Veerasingham S.J., Leenen F.H.H.* Ouabain- and central sodium-induced hypertension depend on the ventral anteroventral third ventricle region // *Ibid.* — 1999. — **276**. — P.H63-H70.

77. *Vrbjar N., Bernatova I., Pechanova O.* Functional alterations of cardiac (Na,K)-ATPase in L-NAME induced hypertension // *Gen. Physiol. Biophys.* — 1999. — **18**, Suppl. 1. — P.10-12.
78. *Wilson K.T., Vaandrager A.B., de Vente J. et al.* Production and localisation of cGMP and PGE₂ in nitroprusside-stimulated rat colonic ion transport // *Amer. J. Physiol.* — 1996. — **270**. — P.C832-C840.
79. *Yamada K., Goto A., Hui Ch., Sugimoto T.* Endogenous digitalis-like factor as a stimulator of endothelin secretion from endothelial cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1990. — **172**. — P.178-183.
80. *Zeidel M.L., Brady H.R., Kone B.C., Gullans S.R., Brenner B.M.* Endothelin, a peptide inhibitor of Na⁺,K⁺-ATPase in intact renal tubular epithelial cells // *Amer. J. Physiol.* — 1989. — **257**. — P.C1101-C1107.
81. *Zhang Y.B., Magyar C.E., Holstein-Rathlou N.-H., McDonough A.A.* The cytochrome P450 inhibitor cobalt chloride prevents inhibition of renal Na,K-ATPase and redistribution of apical NHE-3 during acute hypertension // *J. Amer. Soc. Nephrol.* — 1998. — **9**. — P.531-537.

*Ін-т фізіології ім. О. О. Богомольця
НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 14.06.2000*