

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ СУБЬЕДИНИЦ $\alpha 2$ И $\beta 1$ Na^+/K^+ -АТФАЗЫ,
 $\alpha 1S$ (L-ТИП) Ca^{2+} -КАНАЛА, SERCA 1/2/3 Ca^{2+} -АТФАЗЫ В БЫСТРОЙ И МЕДЛЕННОЙ
МЫШЦАХ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРУЕМОЙ ГИПОГРАВИТАЦИИ
МЕТОДАМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ**

© Л. Ф. Нуруллин,^{1–3} О. В. Тяпкина,^{1–3} Е. М. Волков^{2,*}

¹ Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, Казань, 420111,

² Казанский государственный медицинский университет

Министерства здравоохранения РФ, Казань, 420012,

^{и 3} Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, 420000;

* электронный адрес: euroworm@mail.ru

В условиях моделирования гипогравитации, по данным флуоресцентной микроскопии, в медленной мышце крысы происходит снижение экспрессии $\beta 1$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы, субъединиц Ca^{2+} -АТФазы и увеличение интенсивности синтеза $\alpha 1S$ -субъединицы Ca^{2+} -канала L-типа плазматической мембранны, тогда как синтез $\alpha 2$ -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы не меняется. В быстрой мышце наблюдалось лишь аналогичное «медленной» мышце снижение экспрессии $\beta 1$ -субъединицы без изменения других изучаемых параметров. Однако снижение светимости $\beta 1$ -субъединицы из-за разброса данных оказалось статистически незначимым. Таким образом, гипогравитация отрицательно оказывается на функционировании прежде всего скелетной мускулатуры, обеспечивающей статические нагрузки.

Ключевые слова: Na^+/K^+ -АТФаза, Ca^{2+} -АТФаза, Ca^{2+} -канал L-типа, гипогравитация, скелетная мышца

Принятые сокращения: m. EDL — m. Extensor digitorum longus.

Отсутствие силы тяжести во время космического полета или моделирование невесомости во время лабораторных экспериментов приводит к развитию в скелетных мышцах млекопитающих так называемого гипогравитационного синдрома. Этот синдром выражается в ряде функциональных, а также морфологических изменений в нервно-мышечной системе испытуемых (Григорьев и др., 2004; Тяпкина и др., 2013, 2014). В частности, показано уменьшение трансмембранный разности потенциала в скелетных мышцах крысы (Кривой и др., 2008; Туаркина et al., 2009; Кравцова и др., 2010; Тяпкина и др., 2014). Ведущим механизмом в снижении величины потенциала покоя мышечных волокон является изменение работы Na^+/K^+ -помпы (Кривой и др., 2008; Туаркина et al., 2009; Тяпкина и др., 2014). Известно, что в условиях гипогравитационной разгрузки уже на ранних стадиях эксперимента наблюдается увеличение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в мышечных волокнах млекопитающих (Кривой и др., 2008; Алтаева и др., 2010). Последнее может быть связано, как показали ранее проведенные исследования, с изменением активности Ca^{2+} -каналов L-типа (Мухина и др., 2006; Кривой и др., 2008) и (или) изменением активности изоформ Ca^{2+} -помпы саркоплазматического ретикулума (SERCA) (Алтаева и др., 2010).

В этой связи представляется необходимым изучить экспрессию субъединиц Na^+/K^+ -АТФазы, а также субъ-

единиц Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума и Ca^{2+} -каналов L-типа мышечной мембранны в условиях моделируемой гипогравитационной разгрузки.

Материал и методика

Эксперименты проводили на половозрелых самцах крыс линии Вистар массой 260—280 г. Все процедуры с животными проводили в соответствии с правилами, рекомендованными Физиологической секцией Российского национального комитета по биологической этике (Генин и др., 2001).

Подопытные животные в течение 35 сут находились в условиях антиортостатического вывешивания задних конечностей (общепринятая модель гипогравитационной разгрузки) (Morey-Holton, Globus, 2002). Контрольная группа животных находилась в обычных условиях вивария. В экспериментах использовали быструю (m. Extensor digitorum longus — EDL) и медленную (m. Soleus) мышцы.

Выделенные m. EDL и m. Soleus фиксировали в течение 60 мин в 3%-ном растворе параформальдегида в растворе фосфатного буфера (PBS; 0.1 моль/л) с последующей 3-разовой отмыvkой в PBS по 10 мин каждая. Для криопротекции фиксированный материал помещали на 1 сут в 30%-ный раствор сахараозы, приготовленный на

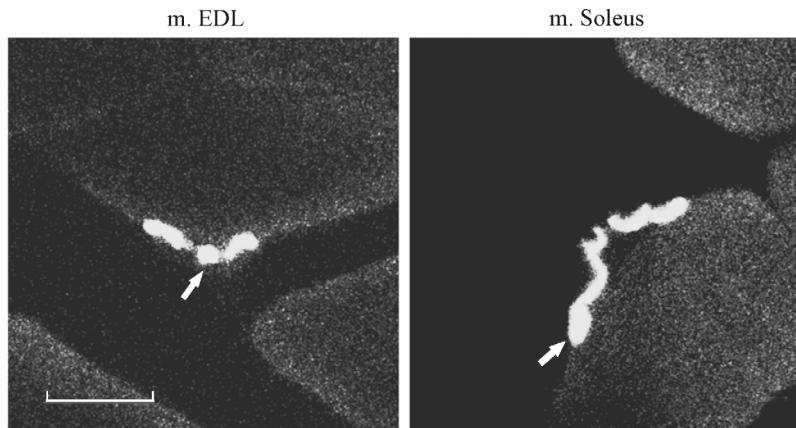


Рис. 1. Окрашивание срезов мышечных волокон т. EDL и т. Soleus TMR- α -бунгартоксином. Стрелками обозначены нервно-мышечные соединения. Масштабные отрезки здесь и на всех рисунках — 10 мкм.

PBS, содержащем 0.1 % азид натрия. Мышицы закрепляли с помощью водорастворимой клейкой среды (Killik, cryostat embedding medium) в криостате Microm Cryo-Star HM 560 Cryostat (Thermo Scientific, США) и готовили свободно плавающие поперечные срезы мышечных волокон толщиной 25 мкм. Полученные срезы монтировали на предметные стекла Superfrost® Plus (Thermo Scientific, США). Срезы инкубировали 10 мин в PBS, затем в 0.1%-ном растворе Тритона X-100 на PBS, далее блокировали в растворе, содержащем 5 % нормальной козьей сыворотки, 1 % бычьего сывороточного альбумина и 0.1 % Тритона X-100, приготовленном на PBS. В дальнейшем проводили 12-часовую инкубацию с первичными поликлональными антителами (anti- α 2 Na⁺/K⁺-ATPase, anti- β 1 Na⁺/K⁺-ATPase, anti-SERCA 1/2/3, anti- α 1S L-type Ca²⁺-channel) в разведении 1 : 200 в 0.1%-ном Тритоне X-100 в PBS при 4 °C с последующей 3-кратной отмыvkой в PBS по 10 мин каждая. Контрольные эксперименты, подтверждающие специфичность связывания антител проводили при отсутствии инкубации с первичными антителами, а также при предварительной инкубации первичных антител в присутствии иммуногенного пептида. Инкубацию со вторичными антителами, конъюгированными с Alexa 488 или Alexa 647 (в разведении 1 : 500), проводили в темноте в течение 1 ч с последующей 3-разовой отмыvkой в PBS при 20 °C по 10 мин каждая. Для маркирования мышечных волокон использовали α -бунгартоксин (рис. 1). В этом случае препарат с TMR- α -бунгартоксином в концентрации 20 мкг/мл инкубировали 30 мин в темноте с последующей 3-кратной отмыvkой по 10 мин в PBS при 20 °C. Готовые препараты заключали в среду Shandon Immu-Mount™ с установкой покровного стекла (Sigma-Aldrich, США). Наблюдения проводили на лазерном конфокальном микроскопе Zeiss LSM 510 Meta (Carl Zeiss, Германия). Использовали масляный иммерсионный объектив 63×. Вторичные антитела возбуждали линиями лазеров 488 (argonовый, эмиссия 519 нм) и 633 нм (гелий-неоновый, эмиссия 647 нм); TMR- α -бунгартоксин возбуждали аргоновым лазером (552 нм, эмиссия 577 нм). Оцифрованные изображения поперечных срезов анализировали с помощью программы ImageJ 1.50 (NIH, США).

Статистическую обработку данных проводили в программе Origin 4.1 (OriginLab Corporation, США) с применением *t*-критерия Стьюдента.

Использованные реагенты: фосфатный буфер (Sigma-Aldrich, США), сахароза (Хеликон, Россия), азид натрия (Sigma-Aldrich, США), водорастворимая клейкая среда Killik, cryostat embedding medium (Bio-Optica, Италия), Тритон X-100 (Sigma-Aldrich, США), нормальная козья сыворотка (Sigma-Aldrich, США), бычий сывороточный альбумин (Sigma-Aldrich, США), первичные поликлональные антитела anti- α 2 Na⁺/K⁺-ATPase, anti- β 1 Na⁺/K⁺-ATPase, anti-SERCA 1/2/3, anti- α 1S L-type Ca²⁺-channel (Santa Cruz Biotechnologies, США), вторичные антитела, конъюгированные с Alexa 488 или Alexa 647 (Invitrogen, США), TMR- α -бунгартоксин (Sigma-Aldrich, США), среда Shandon Immu-Mount™ (Thermo Scientific, США).

Результаты и обсуждение

Na⁺/K⁺-АТФаза является гетеротримером, состоящим из α , β - и γ -субъединиц, в котором α -субъединица отвечает за каталитические и транспортные свойства фермента и содержит участки связывания АТФ, Na⁺, K⁺ и ингибиторов АТФазы (Skou, Esmann, 1992); β -субъединица стабилизирует оптимальную конформацию α -субъединицы при ее встраивании в плазматическую мембрану (Chow, Forte, 1995; McDonough et al., 2002), а также влияет на активацию Na⁺/K⁺-АТФазы ионами K⁺ (Eakle et al., 1994). К настоящему времени у позвоночных идентифицированы четыре α -субъединицы (Shull et al., 1985, 1986; Shamraj, Lingrel, 1994) и три β -изоформы, две из которых (β 1 и β 2) обнаружены у млекопитающих и птиц (Lemas, Fanbrough, 1993). Субъединицы α 1 и β 1 Na⁺/K⁺-АТФазы присутствуют почти во всех тканях (Skou, Esmann, 1992), α 2- и β 1-изоформы экспрессируются в клетках мышц (Blanco, Mercer, 1998).

Эксперименты настоящей работы показали, что величины интенсивности свечения флуоресцентной метки α 2-субъединицы Na⁺/K⁺-АТФазы после 35-суточного антиортостатического вывешивания крысы в т. EDL и в т. Soleus не изменились (см. таблицу; рис. 2). Можно думать, что гипогравитационная разгрузка не влияет на интенсивность синтеза этой изоф ormы α 2-субъединицы Na⁺/K⁺-АТФазы. Светимость мышц при иммунофлуоресцентном выявлении β 1-субъединицы Na⁺/K⁺-АТФазы мышц оказалась почти на порядок менее интенсивной по

Значение светимости α 2- и β 1-субъединиц Na^+/K^+ -АТФазы, SERCA 1/2/3- субъединиц Ca^{2+} -АТФазы, α 1S-субъединицы Ca^{2+} -канала L-типа в м. EDL и м. Soleus крысы в контроле и после 35-суточного антиортостатического вывешивания задних конечностей

Тип белка	Мышцы			
	m. EDL, контроль	m. EDL, 35 сут вывешивания	m. Soleus, контроль	m. Soleus, 35 сут вывешивания
α 2-субъединица Na^+/K^+ -АТФазы	70.62 ± 6.75 (n = 35)	80.89 ± 3.66 (n = 36)	52.59 ± 3.59 (n = 35)	69.28 ± 4.49 (n = 37)
β 1-субъединица Na^+/K^+ -АТФазы	8.97 ± 1.46 (n = 35)	5.59 ± 1.47 (n = 36)	8.14 ± 1.42 (n = 35)	5.06 ± 0.51 (n = 37) $P < 0.05$
SERCA1/2/3 (Ca^{2+} -АТФаза)	155.23 ± 3.59 (n = 35)	137.41 ± 7.02 (n = 36)	108.09 ± 6.58 (n = 35)	61.2 ± 3.81 (n = 37) $P < 0.05$
α 1S-субъединица Ca^{2+} -канала L-типа (Cav1.1)	61.26 ± 6.58 (n = 35)	79.44 ± 7.91 (n = 36)	74.46 ± 5.47 (n = 35)	111.18 ± 7.81 (n = 37) $P < 0.05$

П р и м е ч а н и е. Даны средние значения и их стандартная ошибка для светимости в отн. ед.; n — число исследованных мышц, P — уровень достоверности отличия от контроля с использованием *t*-критерия Стьюдента.

сравнению со светимостью α 2-субъединицы. Антиортостатическое вывешивание в течение 35 сут практически в равной степени уменьшило светимость β 1-субъединицы как в быстрой, так и в медленной мышцах (см. таблицу; рис. 3). Однако данное снижение оказалось статистически значимым лишь для м. Soleus. Последнее обусловлено значительно меньшей величиной разброса стандартной ошибки по сравнению с данными для быстрой мышцы (см. таблицу). Известно, что состав мышечных

волокон, различающихся экспрессией изоэнзимов тяжелых цепей миозиновой АТФазы, в м. EDL представлен тремя разными фенотипами, тогда как м. Soleus практически однородна и на 96 % состоит из одного типа мышечных волокон (Soukup et al., 2002). Нельзя исключить, что разные по фенотипу мышечные волокна могут различаться по выраженности реакции на гипогравитационную разгрузку, что способно «маскировать» снижение экспрессии β 1-субъединицы в быстрой мышце. Можно ду-

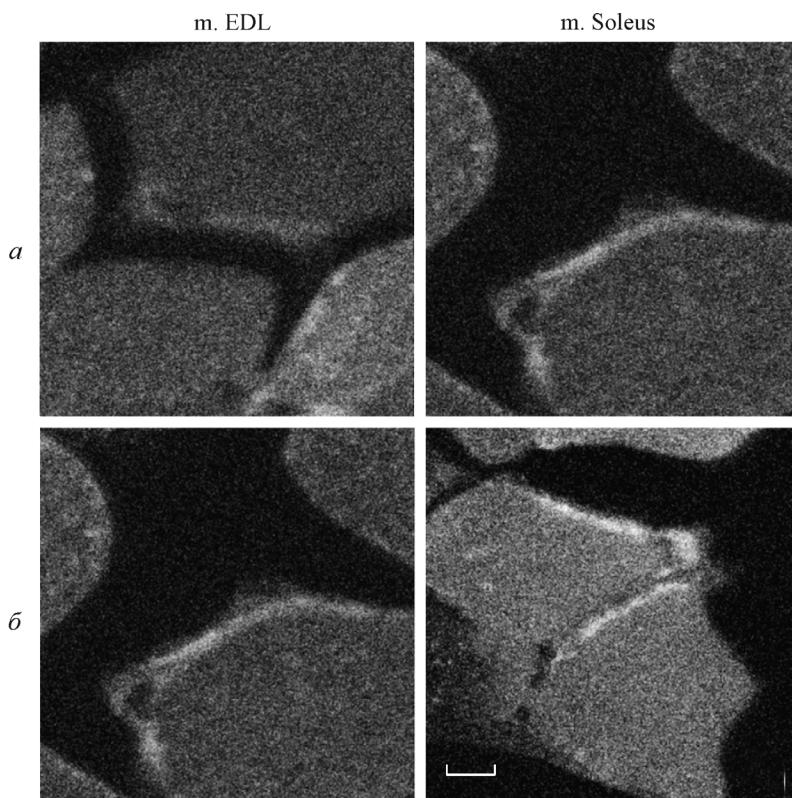


Рис. 2. Окрашивание срезов мышечных волокон м. EDL и м. Soleus меченными антителами к α 2-субъединице Na^+/K^+ -АТФазы в контроле (a) и после 35-суточного антиортостатического вывешивания (б) крысы.

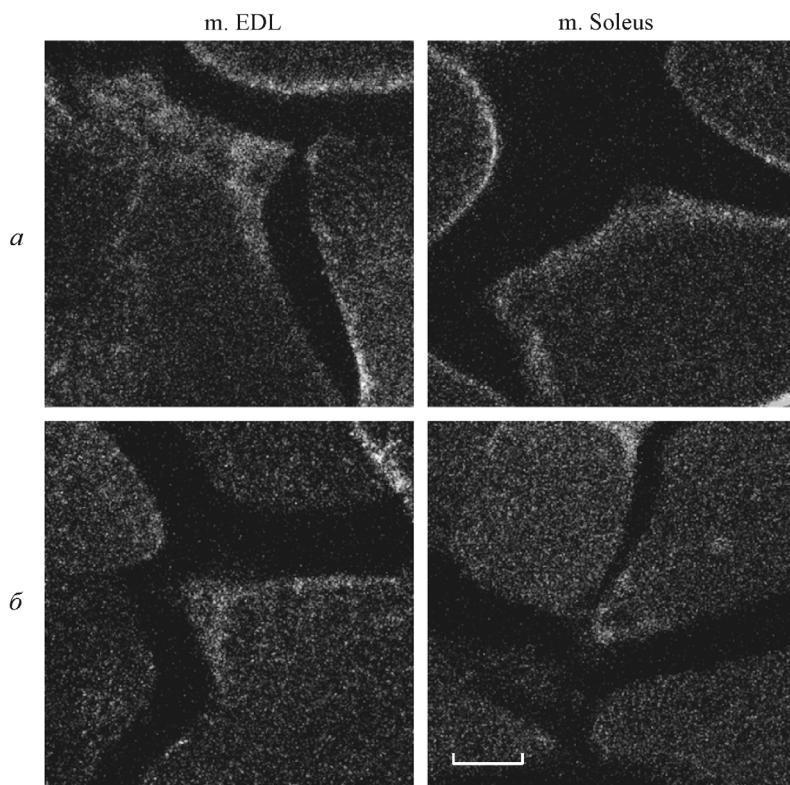


Рис. 3. Окрашивание срезов мышечных волокон т. EDL и т. Soleus антителами к $\beta 1$ -субъединице Na^+/K^+ -АТФазы в контроле (а) и после 35-суточного антиортостатического вывешивания (б) крысы.

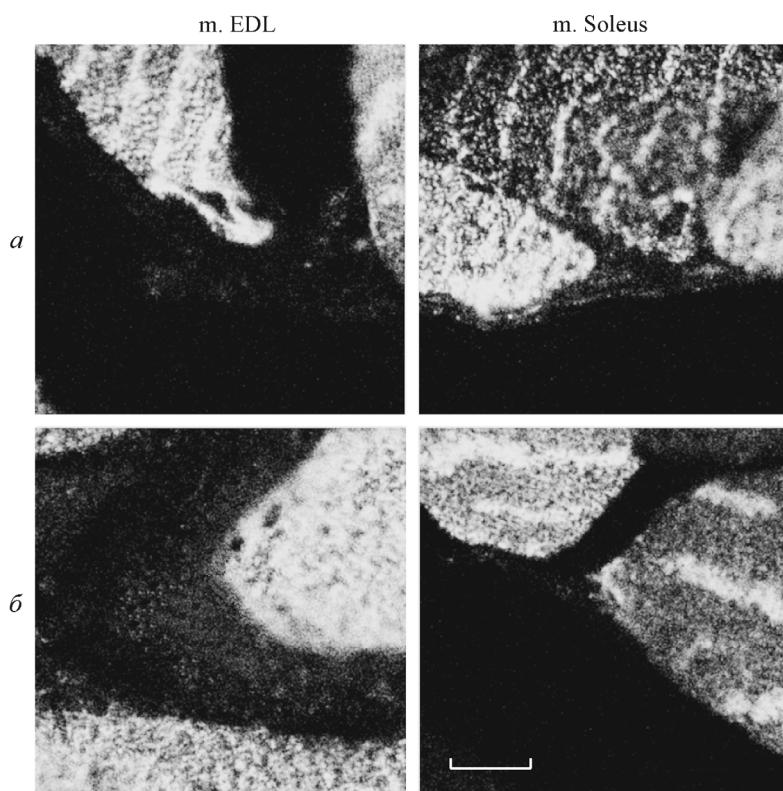


Рис. 4. Окрашивание срезов мышечных волокон т. EDL и т. Soleus антителами к SERCA1/2/3 Ca^{2+} -АТФазы в контроле (а) и после 35-суточного антиортостатического вывешивания (б) крысы.

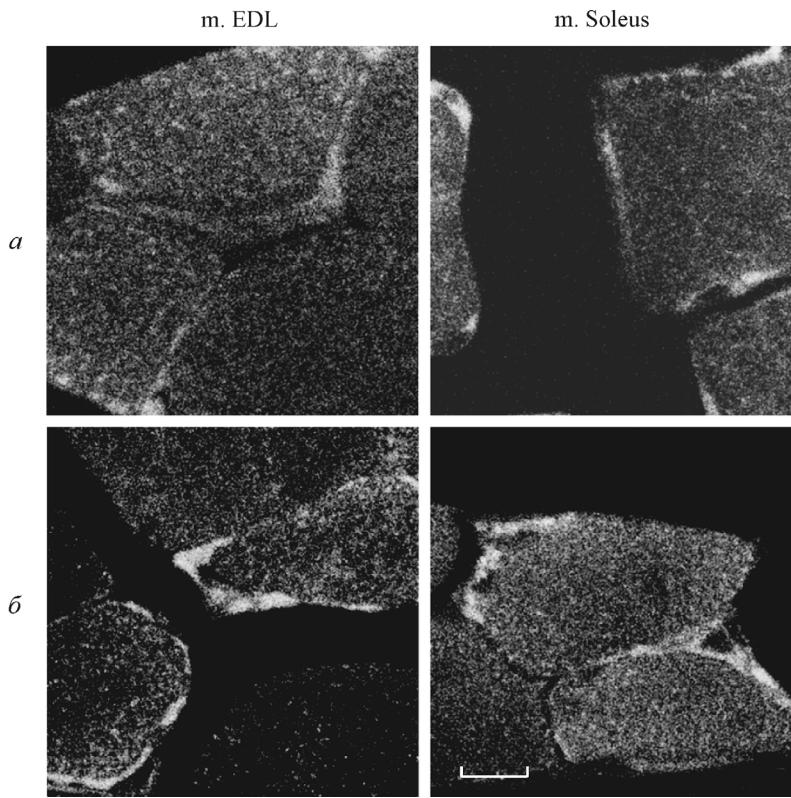


Рис. 5. Окрашивание срезов мышечных волокон м. EDL и м. Soleus антителами к α 1S-субъединице L-типа Ca^{2+} -канала (Cav1.1) в контроле (а) и после 35-суточного антиортостатического вывешивания (б) крысы.

мать, что гипогравитационное моделирование не влияет на экспрессию α 2-субъединицы, но снижает синтез β 1-изоформы.

Для нормального функционирования Na^+/K^+ -АТФазы необходим полноценный синтез α - и β -субъединиц (Seok et al., 1999; Shao et al., 2000). Следовательно, снижение интенсивности экспрессии β -субъединицы может стать лимитирующим фактором для сборки молекул Na^+/K^+ -АТФазы. Можно предположить, что гипогравитационная разгрузка каким-то образом влияет на экспрессию генов, ответственных за синтез β 1-изоформы субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы. Последнее либо уменьшает плотность ионного транспортера в плазматической мемbrane, либо снижает сродство активных зон к ионам K^+ . При этом оба возможных механизма могут реализоваться независимо друг от друга. Таким образом, в механизме снижения мембранныго потенциала покоя, зарегистрированного нами ранее в аналогичных условиях (Tuapkina et al., 2009), существенную роль может играть снижение интенсивности синтеза β 1-изоформы Na^+/K^+ -АТФазы мышечной мембраны.

Иммунофлуоресцентное определение экспрессии SERCA 1/2/3-субъединиц Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума в быстрой и медленной мышцах крысы на 35-е сут антиортостатического вывешивания задних конечностей показало следующее. Интенсивность свечения субъединиц Ca^{2+} -АТФазы в м. EDL в экспериментальных сериях не изменилась по сравнению с контролем (см. таблицу; рис. 4). В м. Soleus, наоборот, в этих условиях наблюдали почти двукратное снижение интенсивности свечения (см. таблицу; рис. 4). Полученные данные указывают на возможное количественное снижение синтеза изоферментов белков Ca^{2+} -АТФазы в медленных мы-

шечных волокнах крысы. Иммуногистохимическая идентификация α 1S-субъединицы Ca^{2+} -канала L-типа, характерного для мышечной мембраны (Renganathan et al., 1999), показало отсутствие изменений интенсивности свечения быстрой мышцы в условиях моделирования невесомости по сравнению с контролем (см. таблицу; рис. 5). В то же время в данных условиях эксперимента интенсивность свечения α 1S-субъединицы Ca^{2+} -канала L-типа оказалась заметно выше по сравнению с контролем (см. таблицу; рис. 5). Таким образом, в медленной мышце крысы, с одной стороны, наблюдается снижение интенсивности свечения субъединиц АТФазы, а с другой, наоборот, увеличение силы свечения субъединицы Ca^{2+} -канала сарколеммы.

Проведенные эксперименты показали, что в условиях моделирования гипогравитации в м. EDL не происходит изменений экспрессии α 2-субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы, 1/2/3-субъединиц Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума, а также α 1S-субъединицы Ca^{2+} -канала L-типа. В отличие от них светимость β 1-субъединицы снижается аналогично тому, что наблюдается в медленной мышце, хотя данное изменение оказалось недостоверным. В аналогичных условиях эксперимента в м. Soleus наблюдается уменьшение экспрессии β 1-субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы, субъединиц Ca^{2+} -АТФазы, и наоборот, увеличение интенсивности синтеза α 1S-субъединицы Ca^{2+} -канала плазматической мембраны. При этом сохраняется прежний уровень синтеза α 2-субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы. Таким образом, моделирование гипогравитационной разгрузки влияет прежде всего на параметры (изученные) медленной мышцы, участвующей в поддержании позы, что согласуется с ранее полученными данными (Кривой и др., 2008; Tuapkina et al., 2009). Ранее было установлено

но, что в условиях моделируемой гипогравитационной разгрузки происходит увеличение Ca^{2+} в мышечных волокнах (Кривой и др., 2008; Алтаева и др., 2010). Можно предположить, что данное явление может быть обусловлено, с одной стороны, снижением интенсивности экспрессии субъединиц Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума, а с другой — увеличением доли Ca^{2+} -каналов в плазматической мембране в этих условиях. В первом случае снижается функциональная способность откачивать Ca^{2+} в Т-систему мышечных волокон, а во втором — увеличивается Ca^{2+} -проницаемость сарколеммы.

Проведенные эксперименты позволяют сделать следующее заключение. Моделируемая длительная гипогравитационная разгрузка задних конечностей крысы снижает экспрессию ряда изоформ белков-транспортеров первично-активных трансмембранных ионотранспортных систем, а именно Na^+/K^+ - и Ca^{2+} -АТФаз, в волокнах медленных мышц. Последнее отрицательно сказывается на функционировании скелетной мускулатуры, обеспечивающей статические нагрузки.

Список литературы

- Алтаева Э. Г., Огнева И. В., Шенкман Б. С. 2010. Динамика накопления ионов кальция и изменения изоформ Са-АТФазы саркоплазматического ретикулума (SERCA) в волокнах камбаловидной мышцы крысы и монгольской песчанки в ходе моделирования гравитационной разгрузки различной длительности. Цитология 52 (9) : 770—775. (Altaeva E. G., Ogneva I. V., Shenkman B. S. 2010. Dynamics of calcium levels and changes SERCA content in muscle fibers of rats and Mongolian gerbils during hind limb unloadings of various duration. Tsitologiya. 52 (9) : 770—775.)
- Генин А. М., Ильин А. Е., Капланский А. С., Касаткина Т. Б., Кузнецова К. А., Пестов И. Д., Смирнова Т. А. 2001. Биоэтические правила проведения исследований на человеке и животных в авиационной, космической и морской медицине. Авиакосм. экол. мед. 35 (4) : 14—20. (Genin A. M., Il'jin A. E., Kaplanskii A. S., Kasatkina T. B., Kuznetsova K. A., Pestov I. D., Smirnova T. A. 2001. Bioethics of research on humans and animals in aviation, space and marine medicine. Aviakosm. Ekol. Med. 35 (4) : 14—20.)
- Григорьев А. И., Козловская И. Б., Шенкман Б. С. 2004. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы. Рос. физiol. журн. им. И. М. Сеченова. 90 (5) : 508—521. (Grigor'ev A. I., Kozlovskaya I. B., Shenkman B. S. 2004. The role of support afferents in organisation of the tonic muscle system. Russ. Fisiol. Zh. Im. I. M. Sechenova. 90 (5) : 508—521.)
- Кравцова В. В., Огнева И. В., Алтаева Э. Г., Разговорова И. А., Тяпкина О. В., Никольский Е. Е., Шенкман Б. С., Кривой И. И. 2010. Электротогенная активность Na-K-АТФазы и содержание ионов кальция в волокнах m. soleus крысы и монгольской песчанки при моделировании гравитационной разгрузки. Авиакосм. экол. мед. 44 (2) : 35—44. (Kravtsova V. V., Ogneva I. V., Altaeva E. G., Razgovorova I. A., Tyapkina O. V., Nikol'skiy E. E., Shenkman B. S., Krivoi I. I. 2010. Electrogenic activity of Na-K-ATPase and calcium ions in m. soleus fibers of rats and Mongolian gerbil during simulation of gravitational unloading. Aviakosm. Ekol. Med. 44 (2) : 35—44.)
- Кривой И. И., Кравцова В. В., Алтаева Э. Г., Кубасов И. В., Прокофьев А. В., Драбкина Т. М., Никольский Е. Е., Шенкман Б. С. 2008. Снижение электротогенного вклада Na-K-АТФазы и мембранныго потенциала покоя как возможный механизм накопления ионов кальция в волокнах m. soleus крысы при кратковременной гравитационной разгрузке. Биофизика. 53 (6) : 1051—1057. (Krivoi I. I., Kravtsova V. V., Altaeva E. G., Kubasov I. V., Prokof'ev A. V., Drabkina T. M., Nikol'skiy E. E., Shenkman B. S. 2008. Decrease in the electrogenic contribution of Na,K-ATPase and resting membrane potential as a possible mechanism of calcium ion accumulation in filaments of the rat musculus soleus subjected to the short-term gravity unloading. Biofizika. 53 (6) : 1051—1057.)
- Мухина А. М., Алтаева Э. Г., Немировская Т. Л., Шенкман Б. С. 2006. Роль кальциевых каналов L-типа в накоплении Ca^{2+} в волокнах m. Soleus крысы и изменения соотношения изоформ миозина и SERCA при гравитационной разгрузке. Рос. физiol. журн. им. И. М. Сеченова. 92 (11) : 1285—1295. (Mukhina A. M., Altaeva E. G., Nemirovskaya T. L., Shenkman B. S. 2006. The role of L-type calcium channels in the accumulation of Ca^{2+} in soleus muscle fibers in the rat and changes in the ratio of myosin and serca isoforms in conditions of gravitational unloading. Russ. Fisiol. Zh. Im. I. M. Sechenova. 92 (11) : 1285—1295.)
- Тяпкина О. В., Волков Е. М., Нуруллин Л. Ф. 2014. Участие ионов хлора в поддержании мембранныго потенциала покоя волокон быстрой и медленной мышц крысы в условиях моделируемой гипогравитационной разгрузки. Бюл. эксперим. биол. мед. 157 (5) : 591—594. (Tyapkina O. V., Volkov E. M., Nurullin L. F. 2014. The role of chloride ions in the maintenance of resting membrane potential in rat fast and slow muscles during hypogravity modeling. Bull. Exp. Biol. Med. 157 (5) : 577—579.)
- Тяпкина О. В., Маломуж А. И., Нуруллин Л. Ф., Никольский Е. Е. 2013. Квантовая и неквантовая секреция ацетилхолина в мионевральных синапсах мышц разного функционального типа при моделировании гипогравитации. Докл. РАН. 488 (1) : 1—4. (Tyapkina O. V., Malomouzh A. I., Nurullin L. F., Nikolsky E. E. 2013. Quantal and non-quantal acetylcholine release at neuromuscular junctions of muscles of different types in a model of hypogravity. Dokl. Biol. Sci. 448 : 4—6.)
- Тяпкина О. В., Нуруллин Л. Ф., Петров К. А., Волков Е. М., Никольский Е. Е. 2014. Влияние моделируемой гипогравитационной разгрузки на постсинаптическую организацию ацетилхолиновых рецепторов и активность ацетилхолинэстеразы в мионевральных синапсах быстрой и медленной мышц крысы. Цитология. 56 (10) : 758—763. (Tyapkina O. V., Nurullin L. F., Petrov K. A., Volkov E. M. 2014. Influence of modeling of gravitational unloading on the postsynaptic acetylcholine receptor organization and acetylcholinesterase activity in neuromuscular synapses of rat fast and slow muscles. Tsitologiya. 56 (10) : 758—763.)
- Blanco G., Mercer R. W. 1998. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. Amer. J. Physiol. 275 : F633—F650.
- Chow D. C., Forte J. G. 1995. Functional significance of the beta-subunit for heterodimeric P-type ATPases. J. Exp. Biol. 198 : 1—17.
- Eakle K. A., Kabalm M. A., Wang S. G., Farley R. A. 1994. The influence of beta subunit structure on the stability of Na^+/K^+ -ATPase complexes and interaction with K^+ . J. Biol. Chem. 269 : 6550—6557.
- Lemas M. V., Fanbrough D. M. 1993. Sequence analysis of DNA encoding an avian Na^+/K^+ -ATPase beta 2-subunit. Biochim. biophys. acta. 1149 : 339—342.
- McDonough A. A., Geering K., Farley R. A. 2002. The sodium pump needs its beta subunit. FASEB J. 4 : 1598—1605.
- Morey-Holton E. R., Globus R. K. 2002. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. J. Appl. Physiol. 92 : 1367—1377.
- Renganathan M., Wang Z. M., Messi M. L., Delbono O. 1999. Calcium regulates L-type Ca^{2+} channel expression in rat skeletal muscle cells. Pflugers. Arch. 438 : 649—655.
- Seok J. H., Hong J. H., Jeon J. R., Hur G. M., Sung J. Y., Lee J. H. 1999. Aldosterone directly induces Na,K-ATPase alpha 1-subunit mRNA in the renal cortex of rat. Biochem. Mol. Biol. Int. 47 : 251—254.
- Shamraj O. I., Lingrel J. B. 1994. A putative fourth Na^+/K^+ -ATPase alpha-subunit gene is expressed in testis. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 91 : 12 952—12 956.
- Shao Y., Ojamaa K., Klein I., Ismail-Beigi F. 2000. Thyroid hormone stimulates Na,K-ATPase gene expression in the hemodynamically unloaded heterotopically transplanted rat heart. Thyroid. 10 : 753—759.

Shull G. E., Greeb J., Lingrel J. B. 1986. Molecular cloning of three distinct forms of the Na⁺,K⁺-ATPase alpha-subunit from rat brain. Biochemistry. 25 : 8125—8132.

Shull G. E., Schwartz A., Lingrel J. B. 1985. Amino-acid sequence of the catalytic subunit of the (Na⁺ + K⁺)ATPase deduced from a complementary DNA. Nature. 316 : 691—695.

Skou J. C., Esmann M. 1992. The Na,K-ATPase. J. Bioenerg. Biomembr. 24 : 249—261.

Soukup T., Zacharová G., Smerdu V. 2002. Fibre type composition of soleus and extensor digitorum longus muscles in normal female inbred Lewis rats. Acta Histochem. 104 : 399—405.

Tyapkina O., Volkov E., Nurullin L., Shenkman B., Kozlovskaya I., Nikolsky E., Vyskočil F. 2009. Resting membrane potential and Na(+),K(+)-ATPase of rat fast and slow muscles during modeling of hypogravity. Physiol. Res. 58 : 599—603.

Поступила 13 I 2016

**FLUORESCENT MICROSCOPY IDENTIFICATION OF THE EXPRESSION OF α 2
AND β 1 NA⁺/K⁺-ATPase, α 1S (L-TYPE), CA²⁺-CHANNEL, SERCA 1/2/3 CA²⁺-ATPase SUBUNITS
AT FAST AND SLOW MUSCLES IN THE HYPOGRAVITY MODELING EXPERIMENTS IN RATS**

L. F. Nurullin,^{1—3} O. V. Tyapkina,^{1—3} E. M. Volkov^{2,}*

¹ Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics KSC RAS, Kazan, 420111,

² Kazan State Medical University, Kazan, 420012,

and ³ Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, 420000,

* e-mail: euroworm@mail.ru

The experiments of modeling hypogravity using fluorescent microscopy have shown a decrease of expression of β 1 of Na⁺/K⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase subunits and the increase in the insensitivity of synthesis of α 1S subunit of the L-type Ca²⁺-channel of the plasmatic membrane, whereas the synthesis of α 2 subunit of Na⁺/K⁺-ATPase does not change. In «fast» muscle only observed similar for «slow» muscle decrease in the expression of β 1 subunit without changing other parameters were studied. However, the decrease in fluorescence β 1 subunit due to spread of data was not statistically significant. Thus hypogravity adversely affects the functioning primarily skeletal muscles, providing static load.

Key words: Na⁺/K⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase, Ca²⁺-channel of L-type, hypogravitation, skeletal muscle.