
ОБЗОРНЫЕ
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ
Na,K-АТФазы В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ

© 2021 г. В. В. Кравцова¹, И. И. Кривой^{1, *}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: iikrivoi@gmail.com

Поступила в редакцию 12.03.2021 г.

После доработки 21.03.2021 г.

Принята к публикации 28.03.2021 г.

Активность Na,K-АТФазы критически важна для поддержания электрогенеза, сократительной функции и работоспособности скелетных мышц. Данный обзор посвящен анализу результатов исследований последних лет в области молекулярного и функционального разнообразия Na,K-АТФазы в скелетных мышцах, ко-экспрессирующих $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -изоформы каталитической и транспортной α -субъединицы Na,K-АТФазы. Рассмотрены проблемы, которые представляются наиболее перспективными с точки зрения их дальнейшего развития. Накопленные факты свидетельствуют, что в отличие от $\alpha 1$ -изоформы, демонстрирующей функциональную стабильность, $\alpha 2$ -изоформа отличается высокой степенью пластичности, которая обусловлена ее специфической мембранной локализацией, функциональными и молекулярными взаимодействиями с белковым и липидным окружением, а также особенностями регуляции различными факторами. Функциональные нарушения $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы относятся к наиболее общим признакам, характерным как для хронических, так и для кратковременных форм двигательной дисфункции.

Ключевые слова: Na,K-АТФаза, изоформы, никотиновый холинорецептор, липидные микродомены, кардиотонические стероиды, сигнальная функция, двигательная активность

DOI: 10.31857/S0869813921060066

I. ПРОБЛЕМЫ ИЗУЧЕНИЯ Na,K-АТФазы СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

При интенсивной двигательной активности, обеспечиваемой скелетной мускулатурой, происходит снижение трансмембранных градиентов Na^+ и K^+ . Наиболее функционально значимо снижение калиевого градиента, поскольку сопутствующая деполяризация плазматической мембраны способна привести к инактивации потенциал-зависимых Na^+ -каналов и снижению возбудимости, и, как следствие, к нарушению механизма генерации потенциалов действия и функционирования системы электромеханического сопряжения [1–5]. Накопление K^+ в синаптических щелях с ограниченной диффузией может привести также к нарушениям в пресинаптическом механизме квантовой секреции медиатора [6]. Среди механизмов поддержания электрогенеза, сократительной функции и работоспособности скелетных мышц важнейшую роль играет активность Na,K-АТФазы. Эта транспортная система, открытая Skou [7], представляет собой интегральный белок, поддерживаю-

щий трансмембранные градиенты Na^+ и K^+ за счет их активного транспорта. Активность Na, K-ATФазы обеспечивает не только электрогенез и возбудимость, но также ряд сопряженных транспортных механизмов клетки [1–4]. Необходимо отметить, что плотность распределения Na, K-ATФазы в сарколемме составляет порядка $1000/\text{мкм}^2$, благодаря чему в скелетных мышцах содержится один из основных пулов Na, K-ATФазы , что важно для поддержания калиевого гомеостаза всего организма в целом [2].

Na, K-ATФаза состоит из двух основных субъединиц α и β . Каталитическую и транспортную функции выполняет α -субъединица, тогда как β -субъединица в основном функционирует в качестве шаперона. С функциональным комплексом α/β ассоциирован также белок семейства FXyD , являющийся модулятором активности фермента [8–12]. Важной особенностью α -субъединицы Na, K-ATФазы является наличие внеклеточных участков, которые формируют специфический сайт связывания (рецептор) для кардиотонических стероидов (КТС). Эти лиганды растительного и животного происхождения в высоких концентрациях являются ингибиторами Na, K-ATФазы и имеют эндогенные циркулирующие структурные аналоги [9, 10, 13–15]. Na, K-ATФаза , как и многие другие функциональные белки, экспрессируется в различных молекулярных формах. Для млекопитающих известны четыре изоформы α -субъединицы ($\alpha 1$ – $\alpha 4$), три изоформы β -субъединицы Na, K-ATФазы , а также семь белков семейства FXyD [8, 9, 11, 12, 16]. Экспрессия этих изоформ носит тканеспецифический характер, а различные их сочетания обеспечивают широкое молекулярное и функциональное разнообразие Na, K-ATФазы . Изоформа $\alpha 1$, экспрессируемая клетками всех тканей, предположительно выполняет основную функцию поддержания ионных градиентов. В большинстве случаев (кроме эритроцитов, почки и некоторых других клеток и тканей) $\alpha 1$ -изоформа коэкспрессируется с одной из изоформ $\alpha 2$ – $\alpha 4$, которые выполняют специфические для данной клетки функции [8, 9, 15, 16].

Важно, что помимо молекулярного разнообразия, на функциональную гетерогенность Na, K-ATФазы важное влияние оказывают и другие факторы. Прежде всего, это факторы, обусловленные специфической мембранной локализацией, особенностями регуляции, а также молекулярным и функциональным взаимодействием с белковым и липидным окружением [15, 16]. В частности, наличие у Na, K-ATФазы ряда структурных доменов позволяет этому белку участвовать в качестве скаффолда в формировании функциональных мультимолекулярных комплексов. Благодаря этим особенностям достигается не только модуляция самой Na, K-ATФазы , но и ее вовлечение в реализацию разнообразных сигнальных внутриклеточных путей [17–21].

В скелетных мышцах коэкспрессируются $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -изоформы Na, K-ATФазы [22, 23], в мышцах человека экспрессируется также $\alpha 3$ -изоформа [24]. Физиологическая роль, особенности локализации и функционирования различных молекулярных форм Na, K-ATФазы являются предметом интенсивного изучения [5, 22, 23, 25–27].

Данный обзор посвящен анализу результатов исследований последних лет, в которых авторы обзора принимали непосредственное участие и которые представляются наиболее перспективными с точки зрения их дальнейшего развития.

Одна из проблем обусловлена неоднородностью распределения $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -изоформ Na, K-ATФазы в сарколемме. Изоформа $\alpha 1$ распределена относительно рав-

номерно. Фракция $\alpha 2$ -изоформы доминирует и достигает 87% от общего количества Na,K-АТФазы в скелетной мышце [22, 23]. Вместе с тем, эта изоформа в покое малоактивна и базовую насосную функцию в основном выполняет $\alpha 1$ -изоформа [28–30]. Важно, что $\alpha 2$ -изоформа Na,K-АТФазы распределена в сарколемме в виде двух основных пулов. Большая часть $\alpha 2$ -изоформы локализована в Т-системе, где участвует в поддержании работоспособности мышцы при накоплении K^+ в Т-системе в условиях интенсивной двигательной нагрузки [5, 25]. Меньший пул $\alpha 2$ -изоформы локализован в постсинаптической области мембраны (концевая пластинка) [26, 30]. Особенности локализации, межмолекулярных взаимодействий, функционирования и регуляции этого пула $\alpha 2$ -изоформы исследованы в меньшей степени. Лишь отдельные работы свидетельствуют о существенных различиях в функционировании и регуляции этих двух пулов $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы [26, 31]. Одна из причин такого различия может заключаться в функциональном и молекулярном взаимодействии между $\alpha 2$ -изоформой и никотиновыми холинорецепторами (нХР) в области концевой пластинки, механизмы и изоформ-специфичность которых во многом остаются неясными [16, 30]. Учитывая существенное влияние, которое оказывает холестерин на функционирование Na,K-АТФазы [32] и ионных каналов [33], роль липидного окружения во взаимодействии нХР/Na,K-АТФаза также заслуживает особого изучения [34].

Другая проблема обусловлена немногочисленностью данных об изоформ-специфичности влияния двигательной активности в отношении Na,K-АТФазы скелетных мышц. Вместе с тем данные о серьезных нарушениях функционирования Na,K-АТФазы с возрастом и при травмах [3, 35], при различных видах миодистрофии [36], в скелетных мышцах гибернирующих животных [37], а также в условиях гравитационной разгрузки [38, 39], настоятельно требуют подобных исследований. Необходимо отметить, что особый интерес представляет начальный этап двигательной разгрузки, который важен для понимания механизмов ранних сигнальных событий, предшествующих развитию атрофии, и который изучен недостаточно [39, 40].

Наконец, достаточно хорошо изучена специфичность регуляции $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы сердечной и гладкой мышц КТС, включая их циркулирующие эндогенные аналоги [15, 41]. Однако лишь относительно немногие исследования посвящены изучению эффектов КТС в скелетных мышцах [31, 42–45].

II. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС НИКОТИНОВОГО ХОЛИНОРЕЦЕПТОРА И Na,K-АТФазы

То, что функциональные и молекулярные взаимодействия между Na,K-АТФазой и разнообразными белками (рецепторы нейромедиаторов, транспортеры и др.) вовлечены в регуляцию синаптической функции, уже не вызывает сомнений [46–50].

Одной из первых была выявлена функциональная и молекулярная связь между Na,K-АТФазой и нХР [16, 30, 51]. В основе этих исследований лежали следующие предпосылки. Общеизвестно, что активация нХР ацетилхолином (АХ), освобождающимся в виде квантов (в микромолярных концентрациях), приводит к открыванию ионных каналов рецепторов и кратковременной деполяризации мембраны концевой пластинки. Однако АХ в наномолярных концентрациях, соответствующих уровню негидролизованного АХ в синаптической щели (преимущественно освобождаемый в неквантовой форме), способен вызывать противоположный эф-

Рис. 1. Гипотетическая схема молекулярного комплекса никотинового холинорецептора (нХР) и Na,K-АТФазы.

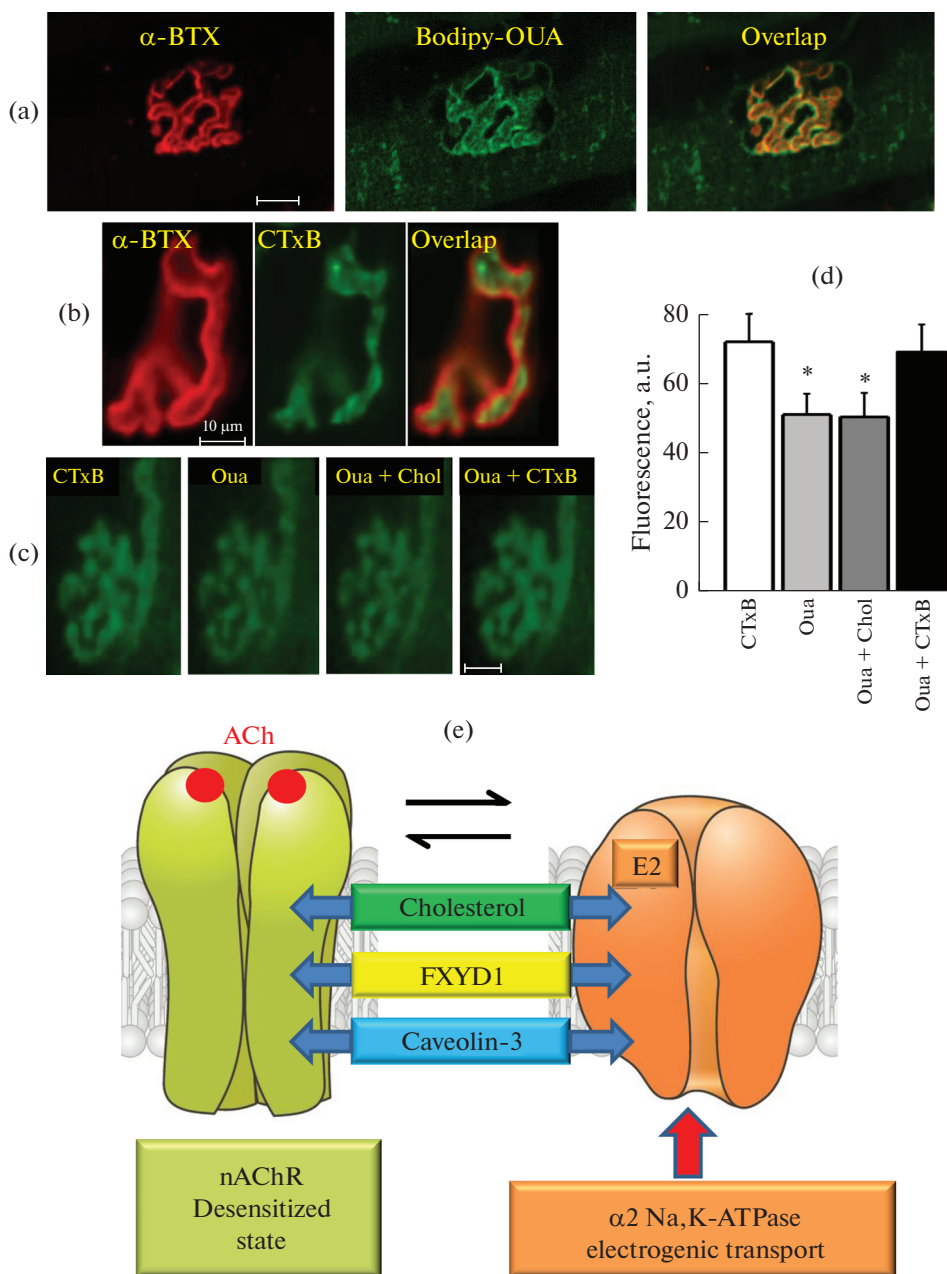
(а) – распределение нХР, меченных α -бунгаротоксином (α -ВТХ, красный канал), и $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы, меченной Bodipy-Ouabain (Bodipy-OUA, зеленый канал), в концевых пластинках диафрагмы мыши C57Bl/6. (b) – распределение нХР и липидных плотиков, меченных субъединицей В холерного токсина (СТхВ, зеленый канал), в концевых пластинках камбаловидной мышцы крысы. (c) и (d) – дестабилизация липидных плотиков в концевой пластинке камбаловидной мышцы крысы убаином (1 мкМ) и их восстановление с помощью комплекса М β ЦД/холестерин. Показаны изображения (c) и уровень флуоресценции (d) после начального окрашивания СТхВ (СТхВ), через 15 мин действия убаина (Oua); через 15 мин после добавления комплекса М β ЦД/холестерин (Oua + Chol) и после повторного окрашивания СТхВ (Oua + СТхВ). Масштаб: 10 мкМ. (e) – гипотетическая схема мультимолекулярного комплекса нХР/ $\alpha 2$ Na,K-АТФаза/FXYD1/кавеолин-3/холестерин. Пояснения в тексте. Данные авторов [34, 36, 56] с изменениями.

фekt – гиперполяризацию мембраны [28, 51–54]. Работами акад. Е.Е. Никольского и соавт. было установлено, что этот эффект обусловлен активацией электрогенного Na,K-насоса некантовым АХ и лежит в основе локальной гиперполяризации мембраны в области концевой пластинки (surplus polarization) [52–54]. Обсуждается физиологическое значение этой локальной гиперполяризации, в частности, при формировании синаптического контакта, а также с точки зрения поддержания постсинаптического электрогенеза [54].

Последующие опыты на мембранных препаратах электрического органа *Torpedo* показали существование реципрокного функционального и молекулярного взаимодействия между нХР и α -субъединицей Na,K-АТФазы [30, 51]. Было установлено также, что АХ в наномолярных концентрациях вызывает гиперполяризацию мембраны за счет специфического увеличения электрогенной активности именно $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы [28, 51]. Наконец, было установлено, что в скелетной мышце часть пула $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы сконцентрирована в области концевой пластинки, где ко-локализована с нХР (рис. 1a) и продемонстрирована коиммунопреципитация между нХР, Na,K-АТФазой, фосфолемманом (субъединица FXYD1) и кавеолином-3 (маркер кавеол в мышечных клетках) [30, 55]. Участие холестерина в качестве молекулярного компонента этого комплекса [34, 56] (рис. 1b–d) рассмотрено ниже в части III данного обзора. Эти данные позволили предположить, что некоторая фракция нХР и $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы образуют функциональный комплекс нХР/ $\alpha 2$ Na,K-АТФаза/FXYD1/кавеолин-3 (рис. 1e), участвующий в модуляции и поддержании постсинаптического электрогенеза и нервно-мышечной передачи [16, 30, 34]. Предположительно, этот комплекс локализован в кавеолах, что подтверждается также данными об участии кавеолина-3 в агрин-индуцируемой кластеризации нХР [57].

Участие белков цитоскелета дистрофина, спектринов, анкиринов и других возможных молекулярных партнеров в организации комплекса нХР/ $\alpha 2$ Na,K-АТФаза остается во многом неясным и нуждается в дальнейшем анализе.

Как и другие лиганд-управляемые каналы, нХР осуществляют постоянные конформационные переходы между закрытым, открытым и десенситизированным состояниями. Здесь важно отметить, что в состоянии десенситизации аффинность нХР к АХ лежит в наномолярном диапазоне, то есть на несколько порядков выше по сравнению с другими конформационными состояниями [58, 59]. Опыты с применением лигандов, сдвигающих равновесие между закрытым и десенситизированным состояниями, позволили предположить, что модуляция $\alpha 2$ -изоформы



Na,K-ATФазы обусловлена связыванием АХ с фракцией нХР, находящихся в состоянии десенситизации. Сами по себе конформационные сдвиги при переходе нХР в десенситизированное состояние также могут служить модулирующим сигналом [30]. Для Na,K-ATФазы принципиальным для осуществления взаимодействия с нХР, предположительно, является конформационный переход E1–E2 [16, 30].

Данные о функциональной связи между нХР и $\alpha 2$ -изоформой Na,K-АТФазы предполагают возможность модуляции Na,K-АТФазы в скелетной мышце циркулирующими холинергическими лигандами. В частности, никотином, концентрация которого в крови при курении табака составляет порядка 100 нМ [60, 61]. Лишь в сравнительно немногих работах изучается влияние циркулирующего никотина на скелетную мускулатуру [62–64], хотя известно, что в этих условиях происходит переход части нХР в состояние десенситизации [65]. Перераспределение между различными конформационными состояниями нХР может действовать как модулирующий Na,K-АТФазу сигнал. Это подтверждается изменением функционирования $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы в сосудах гемато-энцефалического барьера и в мозге [66], а также в диафрагмальной мышце [55] крыс в условиях хронического повышения уровня циркулирующего никотина в крови.

Действует ли подобный механизм в условиях применения ингибиторов ацетилхолинэстеразы, когда повышается уровень циркулирующего негидролизованного эндогенного АХ, неизвестно, и это требует специального анализа. Учитывая применение антихолинэстеразных препаратов в клинике, проведение такого анализа может быть полезным для более глубокого понимания механизмов их побочного действия, а также при отравлении подобными веществами.

Необходимо отметить, что сравнительно недавно функциональная и молекулярная реципрокная связь с Na,K-АТФазой была также показана для нХР нейронального типа у насекомых [67], что позволяет предположить возможность подобного принципа регуляции не только в скелетной мышце, но и в ЦНС.

III. Na,K-АТФаза И ЛИПИДНОЕ ОКРУЖЕНИЕ

Если участие липидов мембраны и холестерина в регуляции пресинаптической квантовой секреции медиатора из моторных нервных окончаний изучено достаточно подробно [34], то данные о роли холестерина в структурно-функциональной организации концевой пластинки сравнительно немногочисленны. Хорошо известно, что все мембранные белки взаимодействуют с липидным окружением [33]. В частности, нХР имеют многочисленные сайты связывания с холестерином, который необходим для нормального функционирования нХР и их встраивания в мембрану концевой пластинки. Установлено, что липидные плотники являются платформой для кластеризации нХР, которая нарушается в случае частичного удаления мембранного холестерина с помощью метил- β -циклодекстрина (М β ЦД) [68–70].

Хорошо известно, что липидное окружение оказывает существенное влияние на функционирование Na,K-АТФазы [32, 70–73]. Однако данные об изоформ-специфичности взаимодействия между Na,K-АТФазой и холестерином весьма противоречивы. Так, в опытах на клеточных линиях и клеточных культурах показаны реципрокные взаимодействия между холестерином и Na,K-АТФазой, в которых сама Na,K-АТФаза может влиять на синтез холестерина и его трафик [74]. Ряд данных свидетельствует об уникальности в этой регуляции $\alpha 1$ -изоформы Na,K-АТФазы, которая осуществляется с участием молекулярного комплекса Na,K-АТФаза/Src/кавеолин-1 [73].

Однако в работах с использованием *Pichia pastoris* в качестве экспрессионной системы в условиях применения таких дестабилизирующих факторов, как нагревание и детергенты, было показано, что липиды, включая холестерин, специфически отвечают за встраивание в плазматическую мембрану $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы

[75, 76]. Предположительно, специфика взаимодействия $\alpha 2$ -изоформы с фосфолипидами мембраны обусловлена особенностями ее трансмембранных доменов M8, M9 и M10, а также более слабой ассоциацией с белком FXVD1 [76].

Перечисленные выше противоречивые данные были получены при исследовании клеточных линий и клеточных культур. Данные об изоформ-специфичности взаимодействия между Na,K-АТФазой и холестерином в скелетной мышце весьма немногочисленны.

В частности, установлено, что удаление части мембранного холестерина с помощью МВЦД специфически снижает электрогенную активность $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы в диафрагме крысы [77]. Другая серия экспериментов [56] показала, что липидные плотки, локализованные в мембране концевой пластинки (рис. 1b), отвечают дестабилизацией при блокировании $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы с помощью 1 мкМ уабаина (рис. 1c), причем эта дестабилизация имеет такой же характер, как и при действии МВЦД. Дестабилизация обусловлена снижением уровня мембранного холестерина, поскольку была обратимой при встраивании в плазматическую мембрану экзогенного холестерина (рис. 1d). Эти данные позволяют предположить реципрокность взаимодействия между холестерином и $\alpha 2$ -изоформой Na,K-АТФазы. Поскольку эффекты МВЦД и уабаина были наиболее выражены в постсинаптической области сарколеммы, взаимодействие между холестерином и $\alpha 2$ -изоформой может быть наиболее функционально значимым для области концевой пластинки. В совокупности полученные данные легли в основу гипотетической схемы мультимолекулярного комплекса nXP/ $\alpha 2$ Na,K-АТФаза/FXYD1/кавеолин-3/холестерин (рис. 1e), локализованного в мембране концевой пластинки и служащего физиологическим механизмом поддержания мышечного электрогенеза и гарантийного фактора нервно-мышечной передачи [34, 56]. Полностью этот механизм остается неизвестным, однако наиболее вероятным с точки зрения взаимодействия с холестерином является переход Na,K-АТФазы в конформационное состояние E2 [56, 72].

IV. Na,K-АТФаза И ДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ

Хорошо известно, что не только двигательная активность зависит от функционирования Na,K-АТФазы, но существует и обратная зависимость. Усиление двигательной активности характеризуется увеличением общего количества Na,K-АТФазы в сарколемме, длительное ослабление активности вызывает противоположный эффект [3]. Изоформ-специфичность этих изменений Na,K-АТФазы изучена недостаточно, и имеющиеся данные получены в основном при изучении нарушений хронического характера при травмах [78, 79] и возрастных изменениях [35]. В опытах на мышцах линий mdx (модель миодистрофии Дюшенна) и Bla/J (модель дисферлинопатии) выявлено, что эти различные по молекулярным механизмам и степени деструкции концевых пластинок модели миодистрофии характеризуются схожими нарушениями электрогенной активности и мембранной локализации $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы. Эти нарушения не зависят от функциональной специализации мышц (диафрагмальная или камбаловидная) и, предположительно, являются результатом их адаптивного ремоделирования при хронической моторной дисфункции [36, 80, 81].

Длительная функциональная разгрузка приводит к потере мышечной массы, ослаблению сократительной функции и, в конечном счете, к атрофии скелетной

мышцы. Обсуждаемые механизмы атрофических процессов, обусловленных двигательной дисфункцией, весьма многочисленны и во многом остаются неясными [39, 40, 82–84]. При этом с точки зрения поиска ключевых сигнальных событий, запускающих атрофическую программу, наиболее интересны механизмы ранних этапов, предшествующих развитию мышечной атрофии. Это относится и к вопросу изоформ-специфичности нарушений Na,K-АТФазы в таких условиях.

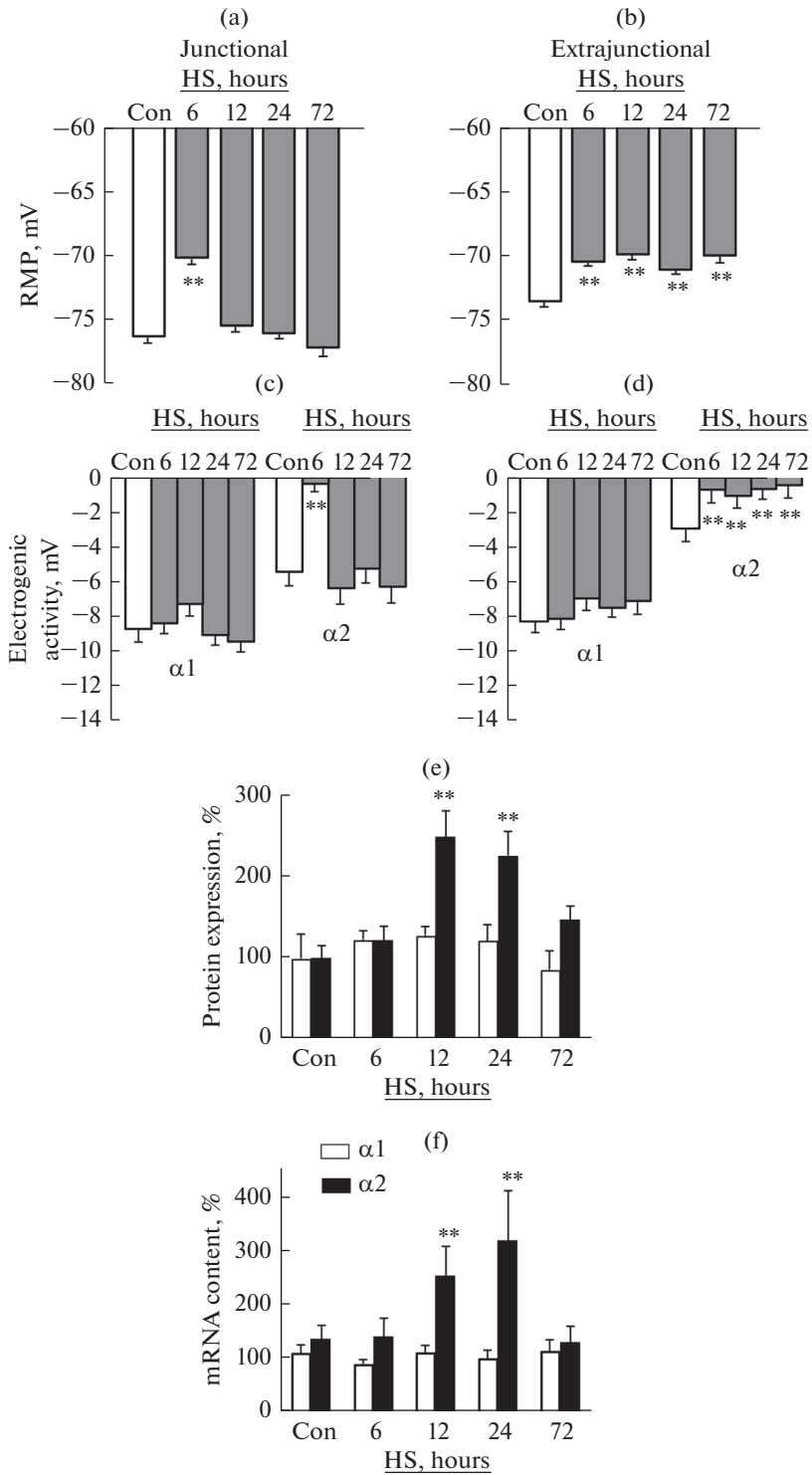
Изучение ранних (6–72 ч) этапов двигательной разгрузки камбаловидной мышцы с использованием метода антиортостатического вывешивания задних конечностей крысы (hindlimb suspension, HS) выявило деполяризацию и снижение возбудимости сарколеммы за счет специфического снижения электрогенной активности $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы [26, 85] (рис. 2). При этом был установлен адаптационный характер этих изменений, а также изменений экспрессии мРНК и количества $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы. Более того, функционирование $\alpha 2$ -изоформы по-разному изменялось в разных районах сарколеммы. В период 12–24 ч HS наблюдалось усиление экспрессии мРНК и количества $\alpha 2$ -изоформы; при этом в области концевой пластинки наблюдалось восстановление активности постсинаптического пула $\alpha 2$ -изоформы и соответственно величины мембранного потенциала покоя. Напротив, во внесинаптическом районе сарколеммы, где локализован основной пул $\alpha 2$ -изоформы, ее электрогенная активность и мембранный потенциал покоя были устойчиво снижены в течение всего периода HS (рис. 2). Механизм этого снижения неясен, но предположительно может быть обусловлен увеличением количества белка FXD1 и усилением его ассоциации с $\alpha 2$ -субъединицей Na,K-АТФазы, что должно тормозить каталитическую активность фермента [26]. Важно, что даже при кратковременной стимуляции двигательного нерва наблюдалось восстановление электрогенной активности $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы в обоих районах сарколеммы [26], что показывает прямую зависимость функционирования $\alpha 2$ -изоформы от двигательной активности независимо от локализации.

Было установлено также, что даже кратковременная (6 ч) двигательная разгрузка в условиях HS сопровождается такими же нарушениями липид-упорядоченной фазы сарколеммы, как и в случае блокирования $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы с помощью 1 мкМ убаина [56]. Дестабилизация липидных плотиков в обоих случаях была наиболее выражена в постсинаптическом районе мембраны, и кратковременная двигательная нагрузка, вызванная стимуляцией двигательного нерва, приводила к частичному восстановлению плотиков. Нарушения плотиков были также обратимы при встраивании в мембрану экзогенного холестерина, что указывает на частичную потерю мембранного холестерина в условиях HS.

В связи с этими наблюдениями важно отметить, что специфическое снижение электрогенной активности и плотности распределения $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы в сарколемме мышц линий mdx и Vla/J, различающихся молекулярными механизмами двигательной дисфункции, также сопровождалось перераспределением

Рис. 2. Вывешивание задних конечностей (hindlimb suspension, HS) в течение 6–72 ч специфически влияет на $\alpha 2$ -изоформу Na,K-АТФазы в камбаловидной мышце крысы.

(а) и (б) – изменение величины мембранного потенциала покоя (RMP). (с) и (д) – изменение электрогенной активности $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -изоформ Na,K-АТФазы. (а, с) и (б, д) – постсинаптический и внесинаптический районы сарколеммы соответственно. (е) – количество белка, (ф) – уровень мРНК $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -изоформ Na,K-АТФазы в общем гомогенате мышц. Пояснения в тексте. Данные авторов [26, 85] с изменениями.



мембранного холестерина [36]. Помимо холестерина, в механизмах ранних нарушений, вызываемых двигательной дисфункцией, показано участие церамидов (основная молекула сфинголипидов), которые накапливаются в мышце при двигательной разгрузке [86].

Ультраструктура нервно-мышечного соединения весьма пластична и существенно зависит от двигательной активности. Такие нарушения структуры концевой пластинки, как изменение ее площади и усиление фрагментации в распределении нХР, наблюдаются при снижении двигательной активности: при возрастных изменениях, после денервации, при миодистрофии и других формах мышечной патологии. Молекулярные механизмы, лежащие в основе таких нарушений, интенсивно исследуются, но во многом продолжают оставаться неясными [87–89].

Важно отметить, что даже кратковременная двигательная разгрузка (6–12 ч HS), вызывающая нарушения функционирования $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы и дестабилизацию липидных плотиков, сопровождается также изменением структуры концевой пластинки [90]. Перечисленные структурно-функциональные нарушения, вызванные двигательной дисфункцией, относятся к наиболее ранним событиям, предшествующим развитию мышечной атрофии. Механизмы этих нарушений остаются предметом дальнейших исследований, однако ряд фактов позволяет предположить, что одним из ключевых факторов является АМФ-активируемая протеинкиназа (АМРК) [39, 40, 83, 91].

В скелетной мышце АМРК является метаболическим сенсором, зависящим от внутриклеточного соотношения АМФ/АТФ. При возрастании потребления энергии клеткой в условиях интенсивной сократительной деятельности, когда увеличивается соотношение АМФ/АТФ, наблюдается активация АМРК. Напротив, при снижении двигательной активности должен наблюдаться противоположный эффект, что подтверждается данными о снижении уровня фосфорилирования АМРК в камбаловидной мышце крысы через 6–24 ч HS [83, 90]. При этом наблюдается также усиление аутофагии [90], которая вовлечена в регуляцию структуры нервно-мышечного соединения и является АМРК-зависимым фактором [92].

К настоящему времени накоплены многочисленные доказательства того, что АМРК в скелетных мышцах является не только регулятором процессов метаболизма, транскрипции, аутофагии и др., но играет также важную роль в поддержания структурно-функциональной организации нервно-мышечного соединения [92–94]. Эксперименты с превентивным введением АICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide, активатор АМРК) позволяют рассматривать АМРК в качестве фармакологической мишени, обладающей терапевтическим потенциалом и препятствующей структурным нарушениям концевой пластинки и развитию симптомов мышечной атрофии [83, 93, 94]. АМРК известен также как важный фактор липидного метаболизма, участвующий в скелетной мышце в регуляции уровня мембранного холестерина [95].

Кроме того, по ряду данных, АМРК обладает способностью активировать Na,K-АТФазу в скелетной мышце [91]. Показано, что при превентивном введении АICAR отсутствует деполяризация сарколеммы камбаловидной мышцы крысы, характерная для HS и обусловленная дисфункцией Na,K-АТФазы [96]. Помимо АМРК, можно рассматривать и другие потенциальные регуляторы Na,K-АТФазы, в частности, оксид азота (NO) [11, 97], являющийся важным сигнальным фактором в условиях функциональной разгрузки скелетной мышцы [98, 99]. Наконец, можно рассматривать β -катенин, ключевой компонент Wnt-зависимого сигнального пути, кото-

рый играет важную роль в формировании нервно-мышечного соединения и за счет взаимодействия с $\alpha 2$ -изоформой Na,K-АТФазы модулирует ее количество, активность и электрогенез скелетных мышечных клеток [100]. Функциональное значение перечисленных регуляторов Na,K-АТФазы в условиях сниженной двигательной активности еще предстоит выяснить.

V. Na,K-АТФаза И КАРДИОТОНИЧЕСКИЕ СТЕРОИДЫ

Внеклеточные участки α -субъединицы Na,K-АТФазы формируют специфический рецептор для ряда лигандов растительного (уабаин, строфантин, дигоксин, дигитоксин и др.), и животного (маринобуфагенин) происхождения [9, 10, 13–15, 18, 101]. Эти лиганды являются специфическими ингибиторами Na,K-АТФазы и в высоких дозах чрезвычайно токсичны. Однако в низких дозах эти лиганды (строфантин, дигоксин) оказывают положительное инотропное действие, благодаря чему широко применяются в клинике сердечно-сосудистых заболеваний. В настоящее время, учитывая сходную стероидную структуру, эти лиганды обычно называют кардиотоническими стероидами (КТС).

По ряду данных, основную роль в реализации положительного инотропного действия КТС в сердечной и гладкой мышцах играет $\alpha 2$ -изоформа Na,K-АТФазы. Предполагается, что это обусловлено особенностями локализации $\alpha 2$ -изоформы в местах тесного прилегания плазматической мембраны к саркоплазматическому ретикулуму, где формируются субклеточные компартменты (микродомены) с ограниченной диффузией [41, 102]. В этих участках $\alpha 2$ -изоформа Na,K-АТФазы тесно компартментализована с Na^+ , Ca^{2+} -обменником, различными Ca^{2+} -каналами и Ca^{2+} -АТФазами. Благодаря этому, при связывании молекул КТС с этим пулом $\alpha 2$ -изоформы за счет ингибирования фермента происходит локальное накопление внутриклеточного Na^+ и сопряженное с ним накопление Ca^{2+} в результате изменения работы Na^+ , Ca^{2+} -обменника. За счет работы SERCA происходит увеличение концентрации Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме, что приводит к усилению выброса Ca^{2+} из ретикулума в ответ на приходящий потенциал действия и соответственно к усилению мышечного сокращения. Помимо SERCA в регуляции кальциевого баланса в этих компартментах также могут принимать участие потенциал- и депо-зависимые Ca^{2+} -каналы плазматической мембраны, рианодиновые и IP_3 рецепторы саркоплазматического ретикулума [18, 41, 102].

Хотя способность КТС усиливать сокращения скелетной мышцы также установлена [23, 42], механизм этого эффекта до сих пор остается неизвестным. Однако есть основания предполагать некоторую аналогию с механизмом положительного инотропного действия КТС в сердечной и гладкой мышцах. Действительно, в скелетной мышце триадное соединение между Т-тубулами и концевыми цистернами саркоплазматического ретикулума, где локализованы дигидропиридиновые и рианодиновые рецепторы, Na^+ , Ca^{2+} -обменник, SERCA [103, 104], а также значительный пул $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы [5], можно считать определенным аналогом “PLasmERosome”.

Важно особо отметить, что хотя уабаин является специфическим ингибитором Na,K-АТФазы, ряд данных свидетельствует о способности уабаина в сверхнизких концентрациях активировать Na,K-АТФазу. В течение уже весьма длительного времени обсуждаются самые различные причины этого феномена [105–108], одна-

ко его механизм до сих пор остается неясным. В частности, предполагается, что эффекты убаина, включая активацию $\alpha 1$ -изоформы Na,K-АТФазы, могут быть обусловлены изменением соотношения внутриклеточных концентраций Na^+ и K^+ [108, 109]. Насколько значим такой механизм для мышечных клеток, в которых убаин в наномолярных концентрациях специфически активирует $\alpha 2$ -изоформу Na,K-АТФазы [31, 105], неизвестно. Однако, если предположить, что локальное повышение внутриклеточной концентрации Na^+ в микродомене около молекулы Na,K-АТФазы, оккупированной молекулой КТС, способно активировать расположенные поблизости свободные молекулы Na,K-АТФазы, это могло бы быть механизмом активирующего действия КТС. Для реализации этого эффекта как раз и необходимы условия специфической субклеточной локализации $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы, которые обсуждались выше.

Чувствительность различных изоформ α -субъединицы Na,K-АТФазы к КТС может различаться, но у грызунов это различие выражено в наибольшей степени. У этих животных $\alpha 1$ -изоформа мало чувствительна к убаину (константа блокирования составляет десятки и сотни мкМ), напротив, изоформы $\alpha 2$ - и $\alpha 3$ - высокочувствительны к убаину (константа блокирования составляет десятки и сотни нМ). У других млекопитающих, включая человека, чувствительность $\alpha 1$ -изоформы к убаину лежит в наномолярном диапазоне концентраций [8, 9, 14, 24, 110].

Специфический рецептор к КТС формируют несколько экстраклеточных участков α -субъединицы Na,K-АТФазы [9, 10, 14]. Участок между трансмембранными доменами M1–M2 определяет чувствительность к убаину. Замены аминокислот в позициях 111 и 122 на этом участке позволяют получать генетически модифицированных мышей с измененной чувствительностью к убаину у $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -изоформ Na,K-АТФазы. Таких животных широко используют для изучения функциональной специализации этих изоформ [14], в частности, при изучении их роли в адаптации скелетной мышцы к физической нагрузке [44].

Поскольку α -субъединица Na,K-АТФазы является специфическим рецептором для КТС, было высказано предположение о существовании эндогенных лигандов к этому рецептору. К настоящему времени выделен ряд эндогенных аналогов КТС, также имеющих стероидную структуру, из которых наиболее изучены эндогенные аналоги убаина и маринобуфагенина. Эти циркулирующие лиганды предположительно синтезируются в коре надпочечников, гипоталамусе и гипофизе [8, 9, 13, 15, 18, 101], и их концентрация в крови и цереброспинальной жидкости в норме лежит в субнаномолярном диапазоне. Однако при различных физиологических и патологических процессах [14, 15, 18, 110, 111], в частности, при интенсивной физической активности [44, 112], концентрация этих лигандов может существенно возрастать.

Хотя роль эндогенных КТС в сердечно-сосудистой системе, ЦНС, почках и других органах в норме и патологии интенсивно исследуется [10, 18, 41, 47, 113–116], сравнительно мало известно об их возможной функции в скелетных мышцах, содержащих один из самых больших пулов Na,K-АТФазы. К настоящему времени продемонстрирована способность убаина в наномолярных концентрациях стимулировать синтез гликогена, что предполагает возможность такого механизма регуляции в скелетной мышце [11, 43]. В опытах на культуре скелетных мышечных клеток человека была показана регуляция наномолярными концентрациями убаина секреции IL-6, а также модуляция IL-6/STAT3-сигнальных путей, осуществляемая

через убаин-чувствительную $\alpha 1$ -изоформу Na,K-АТФазы [45]. В опытах с применением антител, связывающих циркулирующие КТС, было показано, что физиологическая роль эндогенного убаина и $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы может заключаться в динамической адаптации скелетной мышцы к физической нагрузке [44]. Опыты с хроническим введением крысам убаина, вдвое повышающим уровень убаина в крови, показали, что циркулирующий убаин способен модулировать электрогенез диафрагмальной мышцы через активацию $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы, и эффект может развиваться без каких-либо экспрессионных изменений данного белка. Предположительно, такая модуляция может иметь протективное значение в условиях нарушения мышечного электрогенеза при двигательной дисфункции [31, 96].

В настоящее время интенсивно изучается участие эндогенных КТС в механизмах регуляции, реализуемых через так называемую сигнальную функцию Na,K-АТФазы. Предполагается существование двух пулов Na,K-АТФазы, один из которых функционирует как ионный насос. Другой пул, преимущественно локализованный в кавеолах, образует молекулярный комплекс с EGFR и Src-киназой [17, 20] и участвует в мембранной и внутриклеточной сигнальной трансдукции. Выявлен участок α -субъединицы (так называемая NaKtide последовательность), отвечающий за реализацию сигнальной функции Na,K-АТФазы и предположительно специфичный для $\alpha 1$ -изоформы Na,K-АТФазы [20]. Предполагается, что связывание молекулы КТС с комплексом $\alpha 1$ Na,K-АТФаза/Src вызывает конформационные изменения, которые запускают ряд сигнальных внутриклеточных каскадов (ERK1/2 и др.), влияющих на процессы апоптоза, пролиферацию, синтез белка, сократительные свойства, оказывающих нейропротекторное действие и др. [9, 17, 18, 20, 114]. Роль Src-киназы в скелетной мышце изучена недостаточно. В опытах на скелетных мышечных клетках человека показана возможность Src-зависимой регуляции синтеза гликогена наномолярными концентрациями убаина [11, 43] и обсуждается участие Src-киназы в реализации сигнальной функции убаин-чувствительной $\alpha 1$ -изоформы Na,K-АТФазы [45]. Участие $\alpha 2$ - и $\alpha 3$ -изоформ в сигнальной трансдукции поддается сомнению [20, 21].

VI. ПЕРСПЕКТИВЫ

Проведенный нами анализ позволяет высказать некоторые предположения относительно перспектив дальнейших исследований функциональной пластичности $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы. В опытах на экспериментальных моделях миодистрофии Дюшенна и дисферлинопатии, а также в условиях моделирования гравитационной разгрузки, различающихся молекулярными механизмами двигательной дисфункции, выявлены специфические нарушения функционирования $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы, сопровождающиеся перераспределением мембранного холестерина [26, 36, 56]. Перспективным представляется продолжение этих исследований с использованием других моделей нарушений двигательной активности. В частности, модели бокового амиотрофического склероза (Amyotrophic Lateral Sclerosis, ALS) – заболевания, характеризующегося дегенерацией и гибелью мотонейронов, что приводит к денервации и атрофии скелетных мышц. Изоформ-специфичность функционирования Na,K-АТФазы и состояние липид-упорядоченной фазы плазматической мембраны при ALS не исследованы. Одной из моделей ALS может служить линия трансгенных мышей FUS1-513 с эктопной нейроспецифической экспрессией укороченного гена FUS человека [117].

Известно, что нарушение функционирования Na,K-АТФазы является одним из самых ранних ответов на гипоксию [118]. В скелетной мышце гипоксия также вызывает существенные функциональные нарушения [119]. Хотя и имеются данные о деполаризации мышечных волокон при гипоксии, предположительно обусловленные нарушением функции Na,K-АТФазы [120], изоформ-специфичность этих нарушений до сих пор не исследована. Новейшие данные свидетельствуют о терапевтическом потенциале циркулирующих КТС [31, 115, 116]. Эндогенный убаин, повышение уровня которого выявлено при экспериментальной гипоксии у крыс [121], а также Na,K-АТФаза рассматриваются в качестве возможных факторов адаптации к высокогорью и гипоксии [13, 122]. В связи с вышесказанным использование модели гипоксии представляется перспективным для дальнейшего анализа функциональной пластичности $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы.

Нарушение гомеостаза глюкозы, при котором уровень глюкозы в крови превышает нормальный (гипергликемия), является преддиабетическим состоянием. Это происходит в результате нарушения стимулируемой инсулином утилизации глюкозы. Существует корреляция между количеством/активностью Na,K-АТФазы, экспрессируемой скелетными мышцами, и уровнем глюкозы, механизм которой не вполне ясен [123]. Вовлечение $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы в метаболизм глюкозы, связанный с ожирением, остается предметом изучения [124]. Дальнейшее исследование взаимосвязи между функционированием $\alpha 2$ -изоформы Na,K-АТФазы скелетных мышц и уровнем глюкозы также представляется весьма перспективным.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 18-15-00043).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы – В.В.К. и И.И.К., написание и редактирование манускрипта – В.В.К. и И.И.К.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sejersted OM, Sjogaard G* (2000) Dynamics and consequences of potassium shifts in skeletal muscle and heart during exercise. *Physiol Rev* 80: 1411–1481. <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.4.1411>
2. *Clausen T* (2003) Na^+ – K^+ pump regulation and skeletal muscle contractility. *Physiol Rev* 83: 1269–1324. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2003>
3. *Clausen T* (2013) Quantification of Na^+ , K^+ pumps and their transport rate in skeletal muscle: Functional significance. *J Gen Physiol* 142: 327–345. <https://doi.org/10.1085/jgp.201310980>
4. *Clausen T* (2015) Excitation of skeletal muscle is a self-limiting process, due to run-down of Na^+ , K^+ gradients, recoverable by stimulation of the Na^+ , K^+ pumps. *Physiol Rep* 3(4): e12373. <https://doi.org/10.14814/phy2.12373>
5. *DiFranco M, Hakimjavadi H, Lingrel JB, Heiny JA* (2015) Na,K-ATPase $\alpha 2$ activity in mammalian skeletal muscle T-tubules is acutely stimulated by extracellular K^+ . *J Gen Physiol* 146: 281–294. <https://doi.org/10.1085/jgp.201511407>
6. *Matyushkin DP, Krivoi II, Drabkina TM* (1995) Synaptic feed-backs mediated by potassium ions. *Gen Physiol Biophys* 14: 369–381.

7. Skou JC (1957) The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *Biochim Biophys Acta* 23: 394–401.
[https://doi.org/10.1016/0006-3002\(57\)90343-8](https://doi.org/10.1016/0006-3002(57)90343-8)
8. Blanco G, Mercer RW (1998) Isozymes of the Na-K-ATPase: Heterogeneity in structure, diversity in function. *Am J Physiol* 275: F633–F655.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.1998.275.5.F633>
9. Mijatovic T, Van Quaquebeke E, Delest B, Debeir O, Darro F, Kiss R (2007) Cardiotonic steroids on the road to anti-cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 1776: 32–57.
<https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2007.06.002>
10. Bagrov AY, Shapiro JJ, Fedorova OV (2009) Endogenous cardiotonic steroids: Physiology, pharmacology, and novel therapeutic targets. *Pharmacol Rev* 61: 9–38.
<https://doi.org/10.1124/pr.108.000711>
11. Pirkmajer S, Chibalin AV (2016) Na,K-ATPase regulation in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 311(1): E1–E31.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00539.2015>
12. Clausen MV, Hilbers F, Poulsen H (2017) The Structure and Function of the Na,K-ATPase Isoforms in Health and Disease. *Front Physiol* 8: 371.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00371>
13. Blaustein MP (1993) Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca^{2+} stores and cell responsiveness. *Am J Physiol Cell Physiol* 264: C1367–C1387.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.1993.264.6.C1367>
14. Lingrel JB (2010) The physiological significance of the cardiotonic steroid/ouabain-binding site of the Na,K-ATPase. *Annu Rev Physiol* 72: 395–412.
<https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135725>
15. Blaustein MP, Hamlyn JM (2020) Ouabain, Endogenous Ouabain and Ouabain-like Factors: The Na^+ Pump/Ouabain Receptor, its linkage to NCX, and its Myriad Functions. *Cell Calcium* 102159.
<https://doi.org/10.1016/j.ceca.2020.102159>
16. Matchkov VV, Krivoi II (2016) Specialized functional diversity and interactions of the Na,K-ATPase. *Front Physiol* 7: 179.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00179>
17. Xie Z, Askari A (2002) Na^+/K^+ -ATPase as a signal transducer. *Eur J Biochem* 269: 2434–2439.
<https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.02910.x>
18. Schoner W, Scheiner-Bobis G (2007) Endogenous and exogenous cardiac glycosides and their mechanisms of action. *Am J Cardiovasc Drugs* 7: 173–189.
<https://doi.org/10.2165/00129784-200707030-00004>
19. Reinhard L, Tidow H, Clausen MJ, Nissen P (2013) Na^+, K^+ -ATPase as a docking station: protein-protein complexes of the Na^+, K^+ -ATPase. *Cell Mol Life Sci* 70: 205–222.
<https://doi.org/10.1007/s00018-012-1039-9>
20. Cui X, Xie Z (2017) Protein Interaction and Na/K-ATPase-Mediated Signal Transduction. *Molecules* 22: 990.
<https://doi.org/10.3390/molecules22060990>
21. Yu H, Cui X, Zhang J, Xie JX, Banerjee M, Pierre SV, Xie Z (2018) Heterogeneity of signal transduction by Na-K-ATPase alpha-isoforms: role of Src interaction. *Am J Physiol Cell Physiol* 314: C202–C210.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00124.2017>
22. Orłowski J, Lingrel JB (1988) Tissue-specific and developmental regulation of rat Na,K-ATPase catalytic α isoform and β subunit mRNAs. *J Biol Chem* 263: 10436–10442.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)81535-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)81535-1)
23. He S, Shelly DA, Moseley AE, James PF, James JH, Paul RJ, Lingrel JB (2001) The $\alpha 1$ - and $\alpha 2$ -isoforms of Na-K-ATPase play different roles in skeletal muscle contractility. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R917–R925.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.281.3.R917>
24. Cherniavsky Lev M, Karlish SJ, Garty H (2015) Cardiac glycosides induced toxicity in human cells expressing $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, or $\alpha 3$ -isoforms of Na-K-ATPase. *Am J Physiol Cell Physiol* 309: C126–C135.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00089.2015>
25. Radzyukevich TL, Neumann JC, Rindler TN, Oshiro N, Goldhamer DJ, Lingrel JB, Heiny JA (2013) Tissue-specific role of the Na,K-ATPase $\alpha 2$ isozyme in skeletal muscle. *J Biol Chem* 288: 1226–1237.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.424663>
26. Kravtsova VV, Petrov AM, Matchkov VV, Bouzinova EV, Vasiliev AN, Benziane B, Zefirov AL, Chibalin AV, Heiny JA, Krivoi II (2016) Distinct $\alpha 2$ Na,K-ATPase membrane pools are differently

- involved in early skeletal muscle remodeling during disuse. *J Gen Physiol* 147: 175–188.
<https://doi.org/10.1085/jgp.201511494>
27. *Kutz LC, Mukherji ST, Wang X, Bryant A, Larre I, Heiny JA, Lingrel JB, Pierre SV, Xie Z* (2018) Isoform-specific role of Na/K-ATPase $\alpha 1$ in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 314(6): E620–E629.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00275.2017>
 28. *Krivoi I, Vasiliev A, Kravtsova V, Dobretsov M, Mandel F* (2003) Porcine kidney extract contains factor(s) that inhibit the ouabain-sensitive isoform of Na,K-ATPase ($\alpha 2$) in rat skeletal muscle: A convenient electrophysiological assay. *Ann NY Acad Sci* 986: 639–641.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07272.x>
 29. *Radzyukevich TL, Moseley AE, Shelly DA, Redden GA, Behbehani MM, Lingrel JB, Paul RJ, Heiny JA* (2004) The Na,K-ATPase $\alpha 2$ subunit isoform modulates contractility in the perinatal mouse diaphragm. *Am J Physiol Cell Physiol* 287: C1300–C1310.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00231.2004>
 30. *Heiny JA, Kravtsova VV, Mandel F, Radzyukevich TL, Benziane B, Prokofiev AV, Pedersen SE, Chibalin AV, Krivoi II* (2010) The nicotinic acetylcholine receptor and the Na,K-ATPase $\alpha 2$ isoform interact to regulate membrane electrogenesis in skeletal muscle. *J Biol Chem* 285: 28614–28626.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.150961>
 31. *Kravtsova VV, Bouzinova EV, Matchkov VV, Krivoi II* (2020) Skeletal Muscle Na,K-ATPase as a Target for Circulating Ouabain. *Int J Mol Sci* 21: 2875.
<https://doi.org/10.3390/ijms21082875>
 32. *Cornelius F, Habeck M, Kanai R, Toyoshima C, Karlisch SJ* (2015) General and specific lipid-protein interactions in Na,K-ATPase. *Biochim Biophys Acta* 1848: 1729–1743.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.03.012>
 33. *Levitan I, Singh DK, Rosenhouse-Dantsker A* (2014) Cholesterol binding to ion channels. *Front Physiol* 5: 65.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00065>
 34. *Krivoi II, Petrov AM* (2019) Cholesterol and the Safety Factor for Neuromuscular Transmission. *Int J Mol Sci* 20: 1046.
<https://doi.org/10.3390/ijms20051046>
 35. *Wyckelsma VL, McKenna MJ* (2016) Effects of Age on Na⁺,K⁺-ATPase Expression in Human and Rodent Skeletal Muscle. *Front Physiol* 7: 316.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00316>
 36. *Kravtsova VV, Bouzinova EV, Chibalin AV, Matchkov VV, Krivoi II* (2020) Isoform-Specific Na,K-ATPase and Membrane Cholesterol Remodeling in the Motor Endplates in Distinct Mouse Models of Myodystrophy. *Am J Physiol Cell Physiol* 318: C1030–C1041.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00453.2019>
 37. *Guo Q, Mi X, Sun X, Li X, Fu W, Xu S, Wang Q, Arfat Y, Wang H, Chang H, Gao Y* (2017) Remarkable plasticity of Na⁺,K⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase and SERCA contributes to muscle disuse atrophy resistance in hibernating Daurian ground squirrels. *Sci Rep* 7: 10509.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-10829-6>
 38. *Shenkman BS, Kozlovskaya IB* (2019) Cellular Responses of Human Postural Muscle to Dry Immersion. *Front Physiol* 10: 187.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00187>
 39. *Shenkman BS* (2020) How Postural Muscle Senses Disuse? Early Signs and Signals. *Int J Mol Sci* 21: 5037.
<https://doi.org/10.3390/ijms21145037>
 40. *Vilchinskaya NA, Krivoi II, Shenkman BS* (2018) AMP-Activated Protein Kinase as a Key Trigger for the Disuse-Induced Skeletal Muscle Remodeling. *Int J Mol Sci* 19: 3558.
<https://doi.org/10.3390/ijms19113558>
 41. *Blaustein MP, Chen L, Hamlyn JM, Leenen FH, Lingrel JB, Wier WG, Zhang J* (2016) Pivotal role of $\alpha 2$ Na⁺ pumps and their high affinity ouabain binding site in cardiovascular health and disease. *J Physiol* 594: 6079–6103.
<https://doi.org/10.1113/JP272419>
 42. *Krivoi II, Drabkina TM, Kravtsova VV, Vasiliev AN, Vashchinkina EV, Prokofiev AV, Kubasov IV* (2006) Role of the Na⁺,K⁺-ATPase $\alpha 2$ isoform in the positive inotropic effect of ouabain and marinobufagenin in the rat diaphragm. *Biophysics* 51: 799–804.
<https://doi.org/10.1134/S0006350906050228>
 43. *Kotova O, Al-Khalili L, Talia S, Hooke C, Fedorova OV, Bagrov AY, Chibalin AV* (2006) Cardio-tonic steroids stimulate glycogen synthesis in human skeletal muscle cells via a Src- and ERK1/2-dependent mechanism. *J Biol Chem* 281: 20085–20094.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M601577200>

44. *Radzyukevich TL, Lingrel JB, Heiny JA* (2009) The cardiac glycoside binding site on the Na,K-ATPase $\alpha 2$ isoform plays a role in the dynamic regulation of active transport in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 2565–2570.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0804150106>
45. *Pirkmajer S, Bezjak K, Matkovic U, Dolinar K, Jiang LQ, Miš K, Gros K, Milovanova K, Pirkmajer KP, Marš T, Kapilevich L, Chibalin AV* (2020) Ouabain Suppresses IL-6/STAT3 Signaling and Promotes Cytokine Secretion in Cultured Skeletal Muscle Cells. *Front Physiol* 11: 566584.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.566584>
46. *Hazelwood L, Free RB, Cabrera DM, Skinbjerg M, Sibley DR* (2008) Reciprocal modulation of function between the D1 and D2 dopamine receptors and the Na⁺,K⁺-ATPase. *J Biol Chem* 283(52): 36441–36453.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M805520200>
47. *Sibarov DA, Bolshakov AE, Abushik PA, Krivoi II, Antonov SM* (2012) Na⁺,K⁺-ATPase functionally interacts with the plasma membrane Na⁺,Ca²⁺ exchanger to prevent Ca²⁺ overload and neuronal apoptosis in excitotoxic stress. *J Pharmacol Exp Ther* 343: 596–607.
<https://doi.org/10.1124/jpet.112.198341>
48. *Matos M, Augusto E, Agostinho P, Cunha RA, Chen J-F* (2013) Interaction between adenosine A2A receptors and $\alpha 2$ Na,K-ATPase controlling glutamate uptake in astrocytes. *J Neurosci* 33(47): 18492–18502.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1828-13.2013>
49. *Illarionava NB, Brismar H, Aperia A, Gunnarson E* (2014) Role of Na,K-ATPase $\alpha 1$ and $\alpha 2$ isoforms in the support of astrocyte glutamate uptake. *PLoS One* 9(6): e98469.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098469>
50. *Akkuratov EE, Westin L, Vazquez-Juarez E, de Marothy M Melnikova AK, Blom H, Lindskog M, Brismar H, Aperia A* (2020) Ouabain Modulates the Functional Interaction Between Na,K-ATPase and NMDA Receptor. *Mol Neurobiol* 57(10): 4018–4030.
<https://doi.org/10.1007/s12035-020-01984-5>
51. *Krivoi II, Drabkina TM, Kravtsova VV, Vasiliev AN, Eaton MJ, Skatchkov SN, Mandel F* (2006) On the functional interaction between nicotinic acetylcholine receptor and Na⁺,K⁺-ATPase. *Pflugers Arch* 452: 756–765.
<https://doi.org/10.1007/s00424-006-0081-6>
52. *Vyskocil F, Nikolsky E, Edwards C* (1983) An analysis of the mechanisms underlying the non-quantal release of acetylcholine at the mouse neuromuscular junction. *Neuroscience* 9(2): 429–435.
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(83\)90305-6](https://doi.org/10.1016/0306-4522(83)90305-6)
53. *Nikolsky EE, Zemkova H, Voronin VA, Vyskocil F* (1994) Role of non-quantal acetylcholine release in surplus polarization of mouse diaphragm fibres at the endplate zone. *J Physiol* 477: 497–502.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1994.sp020210>
54. *Vyskocil F, Malomouzh AI, Nikolsky EE* (2009) Non-quantal acetylcholine release at the neuromuscular junction. *Physiol Res* 58: 763–784.
55. *Chibalin AV, Heiny JA, Benziane B, Prokofiev AV, Vasiliev AN, Kravtsova VV, Krivoi II* (2012) Chronic nicotine exposure modifies skeletal muscle Na,K-ATPase activity through its interaction with the nicotinic acetylcholine receptor and phospholemman. *PLoS One* 7: e33719.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033719>
56. *Petrov AM, Kravtsova VV, Matchkov VV, Vasiliev AN, Zefirov AL, Chibalin AV, Heiny JA, Krivoi II* (2017) Membrane lipid rafts are disturbed in the response of rat skeletal muscle to short-term disuse. *Am J Physiol Cell Physiol* 312: C627–C637.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00365.2016>
57. *Hezel M, de Groat WC, Galbiati F* (2010) Caveolin-3 promotes nicotinic acetylcholine receptor clustering and regulates neuromuscular junction activity. *Mol Biol Cell* 21(2): 302–310.
<https://doi.org/10.1091/mbc.E09-05-0381>
58. *Prince RJ, Sine SM* (1999) Acetylcholine and epibatidine binding to muscle acetylcholine receptors distinguish between concerted and uncoupled models. *J Biol Chem* 274: 19623–19629.
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.28.19623>
59. *Mouroi A, Rodrigo J, Kotzyba-Hibert F, Bertrand S, Bertrand D, Goeldner M* (2006) Probing the Reorganization of the Nicotinic Acetylcholine Receptor during Desensitization by Time-Resolved Covalent Labeling Using [³H]AC₅, a Photoactivatable Agonist. *Mol Pharmacol* 69: 452–461.
<https://doi.org/10.1124/mol.105.017566>
60. *Lester RA, Dani JA* (1995) Acetylcholine receptor desensitization induced by nicotine in rat medial habenula neurons. *J Neurophysiol* 74: 195–206.
<https://doi.org/10.1152/jn.1995.74.1.195>

61. Benowitz NL, Zevin S, Jacob P (1997) Sources of variability in nicotine and cotinine levels with use of nicotine nasal spray, transdermal nicotine, and cigarette smoking. *Br J Clin Pharmacol* 43: 259–267.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1997.00566.x>
62. Larsson L, Orlander J, Ansved T, Edstrom L (1988) Effects of chronic nicotine exposure on contractile enzyme-histochemical and biochemical properties of fast- and slow-twitch muscles in the rat. *Acta Physiol Scand* 134: 519–527.
<https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1998.tb08526.x>
63. Nakatani T, Nakashima T, Kita T, Ishihara A (2003) Effects of exposure to cigarette smoke at different dose levels on extensor digitorum longus muscle fibres in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 30: 671–677.
<https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2003.03898.x>
64. Degens H, Gayan-Ramirez G, van Hees HWH (2015) Smoking-induced Skeletal Muscle Dysfunction. From Evidence to Mechanisms. *Am J Respir Crit Care Med* 191(6): 620–625.
<https://doi.org/10.1164/rccm.201410-1830pp>
65. Wang H, Sun X (2005) Desensitized nicotinic receptors in brain. *Brain Res Rev* 48: 420–437.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.09.003>
66. Wang L, McComb JG, Weiss MH, McDonough AA, Zlokovic BV (1994) Nicotine downregulates $\alpha 2$ isoform of Na,K-ATPase at the blood-brain barrier and brain in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 199: 1422–1427.
<https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1389>
67. Bao H, Sun H, Xiao Y, Zhang Y, Wang X, Xu X, Liu Z, Fang J, Li Z (2015) Functional interaction of nicotinic acetylcholine receptors and Na^+/K^+ ATPase from *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). *Sci Rep* 5: 8849.
<https://doi.org/10.1038/sRep08849>
68. Zhu D, Xiong WC, Mei L (2006) Lipid rafts serve as a signaling platform for nicotinic acetylcholine receptor clustering. *J Neurosci* 26: 4841–4851.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2807-05.2006>
69. Willmann R, Pun S, Stallmach L, Sadasivam G, Santos AF, Caroni P, Fuhrer C (2006) Cholesterol and lipid microdomains stabilize the postsynapse at the neuromuscular junction. *EMBO J* 25: 4050–4060.
<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601288>
70. Brannigan G, LeBard DN, Henin J, Eckenhoff RG, Klein ML (2010) Multiple binding sites for the general anesthetic isoflurane identified in the nicotinic acetylcholine receptor transmembrane domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 107(32): 14122–14127.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1008534107>
71. Haviv H, Habeck M, Kanai R, Toyoshima C, Karlsh SJ (2013) Neutral phospholipids stimulate Na,K-ATPase activity: a specific lipid-protein interaction. *J Biol Chem* 288: 10073–10081.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.446997>
72. Habeck M, Kapri-Pardes E, Sharon M, Karlsh SJ (2017) Specific phospholipid binding to Na,K-ATPase at two distinct sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 114(11): 2904–2909.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1620799114>
73. Zhang J, Li X, Yu H, Larre J, Dube PR, Kennedy DJ, Tang WHW Westfall K, Pierre SV, Xie Z, Chen Y (2020) Regulation of Na/K-ATPase expression by cholesterol: isoform specificity and the molecular mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 319: C1107–C1119.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00083.2020>
74. Chen Y, Li X, Ye Q, Tian J, Jing R, Xie Z (2011) Regulation of $\alpha 1$ Na/K-ATPase expression by cholesterol. *J Biol Chem* 286: 15517–15524.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.204396>
75. Lijshitz Y, Petrovich E, Haviv H, Goldshleger R, Tal DM, Garty H, Karlsh SJD (2007) Purification of the human $\alpha 2$ isoform of Na,K-ATPase expressed in *Pichia pastoris*. Stabilization by lipids and FXD1. *Biochemistry* 46: 14937–14950.
<https://doi.org/10.1021/bi701812c>
76. Kapri-Pardes E, Katz A, Haviv H, Mahmoud Y, Ilan M, Khalfin-Penigel I, Carmeli S, Yarden O, Karlsh SJD (2011) Stabilization of the $\alpha 2$ isoform of Na,K-ATPase by mutations in a phospholipid binding pocket. *J Biol Chem* 286: 42888–42899.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M111.293852>
77. Kravtsova VV, Petrov AM, Vasiliev AN, Zefirov AL, Krivoi II (2015) Role of cholesterol in the maintenance of endplate electrogenesis in rat diaphragm. *Bull Exp Biol Med* 158: 298–300.
<https://doi.org/10.1007/s10517-015-2745-8>
78. Boon H, Kostovski E, Pirkmajer S, Song M, Lubarski Iversen PO, Hjeltnes N, Widgren U, Chibalin AV (2012) Influence of chronic and acute spinal cord injury on skeletal muscle Na^+/K^+ -ATPase and phospholemman expression in humans. *Am J Physiol Endocrinol Me-*

- tab 302: E864–E871.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00625.2011>
79. Perry BD, Levinger P, Morris HG, Petersen AC, Garnham AP, Levinger I, McKenna MJ (2015) The effects of knee injury on skeletal muscle function, Na^+ , K^+ -ATPase content, and isoform abundance. *Physiol Rep* 3: e12294.
<https://doi.org/10.14814/phy2.12294>
 80. Kravtsova VV, Timonina NA, Zakir'yanova GF, Sokolova AV, Mikhailov VM, Zefirov AL, Krivoi II (2018) The Structural and Functional Characteristics of the Motor End Plates of Dysferlin-Deficient Mice. *Neurochem J* 12: 305–310.
<https://doi.org/10.1134/S1819712418040049>
 81. Kravtsova VV, Bouzjinova EV, Machkov VV, Timonina NA, Zakyrganova GF, Zefirov AL, Krivoi II (2019) Abnormal membrane localization of $\alpha 2$ isoform of Na , K -ATPase in m. soleus of dysferlin-deficient mice. *Bull Exp Biol Med* 166: 593–597.
<https://doi.org/10.1007/s10517-019-04398-z>
 82. Bodine SC, Baehr LM (2014) Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF-1 and MAFbx/Atrogin-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 307: E469–E484.
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00204.2014>
 83. Vilchinskaya NA, Mochalova EP, Nemirovskaya TL, Mirzoev TM, Turtikova OV, Shenkman BS (2017) Rapid decline in MyHC I(β) mRNA expression in rat soleus during hindlimb unloading is associated with AMPK dephosphorylation. *J Physiol* 595: 7123–7134.
<https://doi.org/10.1113/JP275184>
 84. Gorza L, Sorge M, Secli L, Brancaccio M (2021) Master Regulators of Muscle Atrophy: Role of Costamere Components. *Cells* 10: 61.
<https://doi.org/10.3390/cells10010061>
 85. Kravtsova VV, Matchkov VV, Bouzjinova EV, Vasiliev AN, Razgovorova IA, Heiny JA, Krivoi II (2015) Isoform-specific Na , K -ATPase alterations precede disuse-induced atrophy of rat soleus muscle. *Biomed Res Int* 720172.
<https://doi.org/10.1155/2015/720172>
 86. Bryndina IG, Shalagina MN, Protopopov VA, Sekunov AV, Zefirov AL, Zakirjanova GF, Petrov AM (2021) Early Lipid Raft-Related Changes: Interplay between Unilateral Denervation and Hindlimb Suspension. *Int J Mol Sci* 22: 2239.
<https://doi.org/10.3390/ijms22052239>
 87. Rudolf R, Khan MM, Labeit S, Deschenes MR (2014) Degeneration of neuromuscular junction in age and dystrophy. *Front Aging Neuroci* 6: 99.
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00099>
 88. Tintignac LA, Brenner HR, Rüegg MA (2015) Mechanisms regulating neuromuscular junction development and function and causes of muscle wasting. *Physiol Rev* 95: 809–852.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00033.2014>
 89. Slater CR (2020) “Fragmentation” of NMJs: a sign of degeneration or regeneration? A long journey with many junctions. *Neuroscience* 439: 28–40.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.05.017>
 90. Chibalin AV, Benziane B, Zakyrganova GF, Kravtsova VV, Krivoi II (2018) Early endplate remodeling and skeletal muscle signaling events following rat hindlimb suspension. *J Cell Physiol* 233: 6329–6336.
<https://doi.org/10.1002/jcp.26594>
 91. Pirkmajer S, Petric M, Chibalin AV (2021) The role of AMPK in regulation of Na^+ , K^+ -ATPase in skeletal muscle: does the gauge always plug the sink? *J Muscle Res Cell Motil* 42(1): 77–97.
<https://doi.org/10.1007/s10974-020-09594-3>
 92. Carnio S, LoVerso F, Baraibar MA, Longa E, Khan MM, Maffei M, Reischl M, Canepari M, Loeffler S, Kern H, Blaauw B, Friguat B, Bottinelli R, Rudolf R, Sandri M (2014) Autophagy impairment in muscle induces neuromuscular junction degeneration and precocious aging. *Cell Rep* 8: 1509–1521.
<https://doi.org/10.1016/j.celRep.2014.07.061>
 93. Cervero C, Montull N, Tarabal O, Piedrafita L, Esquerda JE, Calderó J (2016) Chronic treatment with the AMPK agonist AICAR prevents skeletal muscle pathology but fails to improve clinical outcome in a mouse model of severe spinal muscular atrophy. *Neurotherapeutics* 13: 198–216.
<https://doi.org/10.1007/s13311-015-0399-x>
 94. Dial AG, Ng SY, Manta A, Ljubicic V (2018) The Role of AMPK in Neuromuscular Biology and Disease. *Trends Endocrinol Metab* 29: 300–312.
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2018.02.010>
 95. Ambery AG, Tackett L, Penque BA, Brozinick JT, Elmendorf JS (2017) Exercise training prevents skeletal muscle plasma membrane cholesterol accumulation, cortical actin filament loss, and

- insulin resistance in C57BL/6J mice fed a western-style high-fat diet. *Physiol Rep* 5: e13363. <https://doi.org/10.14814/phy2.13363>
96. *Kravtsova VV, Vilchinskaya NA, Rozlomie VL, Shenkman BS, Krivoi II* (2019) Low Ouabain Doses and AMP-Activated Protein Kinase as Factors Supporting Electrogenesis in Skeletal Muscle. *Biochemistry (Moscow)* 84: 1085–1092. <https://doi.org/10.1134/S0006297919090116>
97. *Juel C* (2016) Nitric oxide and Na,K-ATPase activity in rat skeletal muscle. *Acta Physiol (Oxf)* 216(4): 447–453. <https://doi.org/10.1111/apha.12617>
98. *Vitadello M, Sorge M, Percivalle E, Germinario E, Danieli-Betto D, Turco E, Tarone G, Braccaccio M, Gorza L* (2020) Loss of melusin is a novel, neuronal NO synthase/FoxO3-independent master switch of unloading-induced muscle atrophy. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 11: 802–819. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12546>
99. *Sharlo KA, Paramonova II, Lvova ID, Mochalova EP, Kalashnikov VE, Vilchinskaya NA, Tyganov SA, Konstantinova TS, Shevchenko TF, Kalamkarov GR, Shenkman BS* (2021) Plantar Mechanical Stimulation Maintains Slow Myosin Expression in Disused Rat Soleus Muscle via NO-Dependent Signaling. *Int J Mol Sci* 22: 1372. <https://doi.org/10.3390/ijms22031372>
100. *Zhao C, Yu Y, Zhang Y, Shen J, Jiang L, Sheng G, Zhang W, Xu L, Jiang K, Mao S, Jiang P, Gao F* (2019) β -Catenin Controls the Electrophysiologic Properties of Skeletal Muscle Cells by Regulating the $\alpha 2$ Isoform of Na^+/K^+ -ATPase. *Front Neurosci* 13: 831. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00831>
101. *Doris PA, Bagrov AY* (1998) Endogenous sodium pump inhibitors and blood pressure regulation: an update on recent progress. *Proc Soc Exp Biol Med* 218: 156–167. <https://doi.org/10.3181/00379727-218-44283>
102. *Blaustein MP, Golovina VA* (2001) Structural complexity and functional diversity of endoplasmic reticulum Ca^{2+} stores. *Trends Neurosci* 24: 602–608. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(00\)01891-9](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(00)01891-9)
103. *Sacchetto R, Margreth A, Pelosi M, Carafoli E* (1996) Colocalization of the dihydropyridine receptor, the plasma-membrane calcium ATPase isoform 1 and the sodium/calcium exchanger to the junctional membrane domain of transverse tubules of rabbit skeletal muscle. *Eur J Biochem* 237: 483–488.
104. *Altamirano F, Eltit JM, Robin G, Linares N, Ding X, Pessah IN, Allen PD, López JR* (2014) Ca^{2+} influx via the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger is enhanced in malignant hyperthermia skeletal muscle. *J Biol Chem* 289: 19180–19190. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.550764>
105. *Gao J, Wymore RS, Wang Y, Gaudette GR, Krukenkamp IB, Cohen IS, Mathias RT* (2002) Isoform-specific stimulation of cardiac Na/K pumps by nanomolar concentrations of glycosides. *J Gen Physiol* 119: 297–312. <https://doi.org/10.1085/jgp.20028501>
106. *Holthouser KA, Mandal A, Merchant ML, Schelling JR, Delamere NA, Valdes RR Jr, Tyagi SC, Lederer ED, Khundmiri SJ* (2010) Ouabain stimulates Na-K-ATPase through a sodium/hydrogen exchanger-1 (NHE-1)-dependent mechanism in human kidney proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 299: F77–F90. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00581.2009>
107. *Ketchem CJ, Conner CD, Murray RD, DuPlessis M, Lederer ED, Wilkey D, Merchant M, Khundmiri SJ* (2016) Low dose ouabain stimulates Na-K ATPase $\alpha 1$ subunit association with angiotensin II type 1 receptor in renal proximal tubule cells. *Biochim Biophys Acta* 1863: 2624–2636. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.07.008>
108. *Tverskoi AM, Sidorenko SV, Klimanova EA, Akimova OA, Smolyaninova LV, Lopina OD, Orlov SN* (2016) Effects of ouabain on proliferation of human endothelial cells correlate with Na^+/K^+ -ATPase activity and intracellular ratio of Na^+ and K^+ . *Biochemistry (Moscow)* 81: 876–883. <https://doi.org/10.1134/S0006297916080083>
109. *Orlov SN, Klimanova EA, Tverskoi AM, Vladychenskaya EA, Smolyaninova LV, Lopina OD* (2017) Na^+/K^+ -Dependent and -Independent Signaling Triggered by Cardiotoxic Steroids: Facts and Artifacts. *Molecules* 22: 635. <https://doi.org/10.3390/molecules22040635>
110. *Dobretsov M, Stimers JR* (2005) Neuronal function and alpha3 isoform of the Na/K-ATPase. *Front Biosci* 10: 2373–2396. <https://doi.org/10.2741/1704>
111. *Khalaf FK, Dube P, Mohamed A, Tian J, Malhotra D, Haller ST, Kennedy DJ* (2018) Cardio-tonic steroids and the sodium trade balance: new insights into trade-off mechanisms mediated

- by the Na^+/K^+ -ATPase. *Int J Mol Sci* 19: 2576.
<https://doi.org/10.3390/ijms19092576>
112. *Bauer N, Müller-Ehmsen J, Krämer U, Hambarchian N, Zobel C, Schwinger RH Neu H, Kirch U, Grünbaum EG, Schoner W* (2005) Ouabain-like compound changes rapidly on physical exercise in humans and dogs: Effects of β -blockade and angiotensin-converting enzyme inhibition. *Hypertension* 45: 1024–1028.
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000165024.47728.f7>
 113. *Hamlyn JM, Manunta P* (2015) Endogenous cardiotoxic steroids in kidney failure: A review and an hypothesis. *Adv Chronic Kidney Dis* 22: 232–244.
<https://doi.org/10.1053/j.ackd.2014.12.005>
 114. *Lichtstein D, Ilani A, Rosen H, Horesh N, Singh SV, Buzaglo N, Hodes A* (2018) Na^+/K^+ -ATPase Signaling and Bipolar Disorder. *Int J Mol Sci* 19: 2314.
<https://doi.org/10.3390/ijms19082314>
 115. *Markov AG, Fedorova AA, Kravtsova VV, Bikmurzina AE, Okorokova LS, Matchkov VV, Corneliu V, Amasheh S, Krivoi I I* (2020) Circulating Ouabain Modulates Expression of Claudins in Rat Intestine and Cerebral Blood Vessels. *Int J Mol Sci* 21: 5067.
<https://doi.org/10.3390/ijms21145067>
 116. *Agalakova NI, Kolodkin NI, Adair CD, Trashkov AP, Bagrov AY* (2021) Preeclampsia: Cardio-tonic Steroids, Fibrosis, Fli1 and Hint to Carcinogenesis. *Int J Mol Sci* 22: 1941.
<https://doi.org/10.3390/ijms22041941>
 117. *Shelkovnikova TA, Peters OM, Deykin AV, Connor-Robson N, Robinson H, Ustyugov AA, Bachurin SO, Ermolkevich TG, Goldman IL, Saadchikova ER, Kovrazhkina EA, Skvortsova VI, Ling SC, Da Cruz S, Parone PA, Buchman VL, Ninkina NN* (2013) Fused in sarcoma (FUS) protein lacking nuclear localization signal (NLS) and major RNA binding motifs triggers proteinopathy and severe motor phenotype in transgenic mice. *J Biol Chem* 288: 25266–25274.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.492017>
 118. *Bogdanova A, Petrushanko IY, Hernansanz-Agustin P, Martínez-Ruiz A* (2016) “Oxygen Sensing” by Na^+/K^+ -ATPase: These Miraculous Thiols. *Front Physiol* 7: 314.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00314>
 119. *Chuang C-C, Zhou T, Olfert IM, Zuo L* (2018) Hypoxic Preconditioning Attenuates Reoxygenation-Induced Skeletal Muscle Dysfunction in Aged Pulmonary TNF- α Overexpressing Mice. *Front Physiol* 9: 1720.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01720>
 120. *Yskocil F, Di Gregorio F, Gorio A* (1985) The facilitating effect of gangliosides on the electrogenic (Na^+/K^+) pump and on the resistance of the membrane potential to hypoxia in neuromuscular repair. *Pflugers Arch* 403: 1–6.
<https://doi.org/10.1007/BF00583273>
 121. *De Angelis C, Hauptert GT Jr* (1998) Hypoxia triggers release of an endogenous inhibitor of Na^+/K^+ -ATPase from midbrain and adrenal. *Am J Physiol* 274: F182–F188.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.1998.274.1.F182>
 122. *Lewis P, O'Halloran KD* (2016) Diaphragm Muscle Adaptation to Sustained Hypoxia: Lessons from Animal Models with Relevance to High Altitude and Chronic Respiratory Diseases. *Front Physiol* 7: 623.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00623>
 123. *Iannello S, Milazzo P, Belfiore F* (2007) Animal and human tissue Na^+/K^+ -ATPase in normal and insulin-resistant states: regulation, behaviour and interpretative hypothesis on NEFA effects. *Obes Rev* 8: 231–251.
<https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2006.00276.x>
 124. *Kawakami K, Onaka T, Iwase M, Homma I, Ikeda K* (2005) Hyperphagia and obesity in Na^+/K^+ -ATPase α 2 subunit-defective mice. *Obes Res* 13: 1661–1671.
<https://doi.org/10.1038/oby.2005.204>

Molecular and Functional Heterogeneity of Na^+/K^+ -ATPase in the Skeletal Muscle

V. V. Kravtsova^a and I. I. Krivoi^{a,*}

^aSt. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

*e-mail: iikrivoi@gmail.com

Na^+/K^+ -ATPase activity is critical for maintaining electrogenesis, contractile function and skeletal muscle performance. This review is devoted to the analysis of the results of

recent studies in the field of molecular and functional diversity of Na,K-ATPase in skeletal muscle, co-expressing $\alpha 1$ and $\alpha 2$ isoforms of the catalytic and transport α subunit of Na,K-ATPase. The problems that seem to be the most promising from the point of view of their further development are considered. The accumulated facts indicate that, in contrast to the $\alpha 1$ isoform, which demonstrates functional stability, the $\alpha 2$ isoform is distinguished by a high degree of plasticity, which is due to its specific membrane localization, functional and molecular interactions with the protein and lipid environment, as well as the peculiarities of regulation by various factors. Functional disorders of the $\alpha 2$ isoform of Na,K-ATPase are among the most common signs characteristic of both chronic and short-term forms of motor dysfunction.

Keywords: Na,K-ATPase, isoforms, nicotinic acetylcholine receptor, lipid microdomains, cardiotonic steroids, signaling function, motor activity