

Når kroppens vitale pumper svigter

Når den livsvigtige Natrium-kalium-pumpe i vores celler ikke virker som den skal, kan det give sig udslag i neurologiske sygdomme. Ved bl.a. at studere pumper med sygdomsmutationer, er det lykkedes at finde en ny mekanisme for, hvordan Natrium-kalium-pumper egentlig virker.

Af Hanne Poulsen og
Michael Jakob Clausen

■ Et børneværelse med alle legoklodserne samlet i den gule kasse og alle tøjdyrene i den grønne kræver megen energi. For den naturlige tilstand er, at alt legetøjet er spredt ud over hele gulvet. På samme måde kræver det energi for kroppen at sortere sine ioner. Ionerne vil helst fordele sig jævnt, men hvis de fik lov til det, var der ikke noget liv. Der ligger nemlig en stor drivkraft i ionernes koncentrationsforskelle, som udnyttes til f.eks. hjertets rytmiske slag, neuronernes kommunikation, musklernes arbejde, nyrernes funktion og sædcellers bevægelser. Alle disse fysiologiske processer afhænger af det samme enzym: natrium-kalium-pumpen.

På trods af, at natrium-kalium-pumpen har været genstand for intens forskning, siden den blev opdaget af Jens



Migræne med aura kan skyldes, at enzymer modarbejder ellers velfungerende natrium-kalium-pumper.

Christian Skou fra Aarhus Universitet i 1957, var det først i 2007, det lykkedes forskere fra grundforskningscenteret Pumpkin ved Aarhus Universitet at kortlægge, hvordan de enkelte atomer i pumpen sidder i forhold til hinanden.

Det har nu gjort det muligt at forstå de finere mekanismer i pumpen, som har betydning for udviklingen af to neurologiske sygdomme, nemlig en særlig form for migræne og en alvorlig sygdom kaldet *dystonisk parkinsonisme*.

En iondæmning

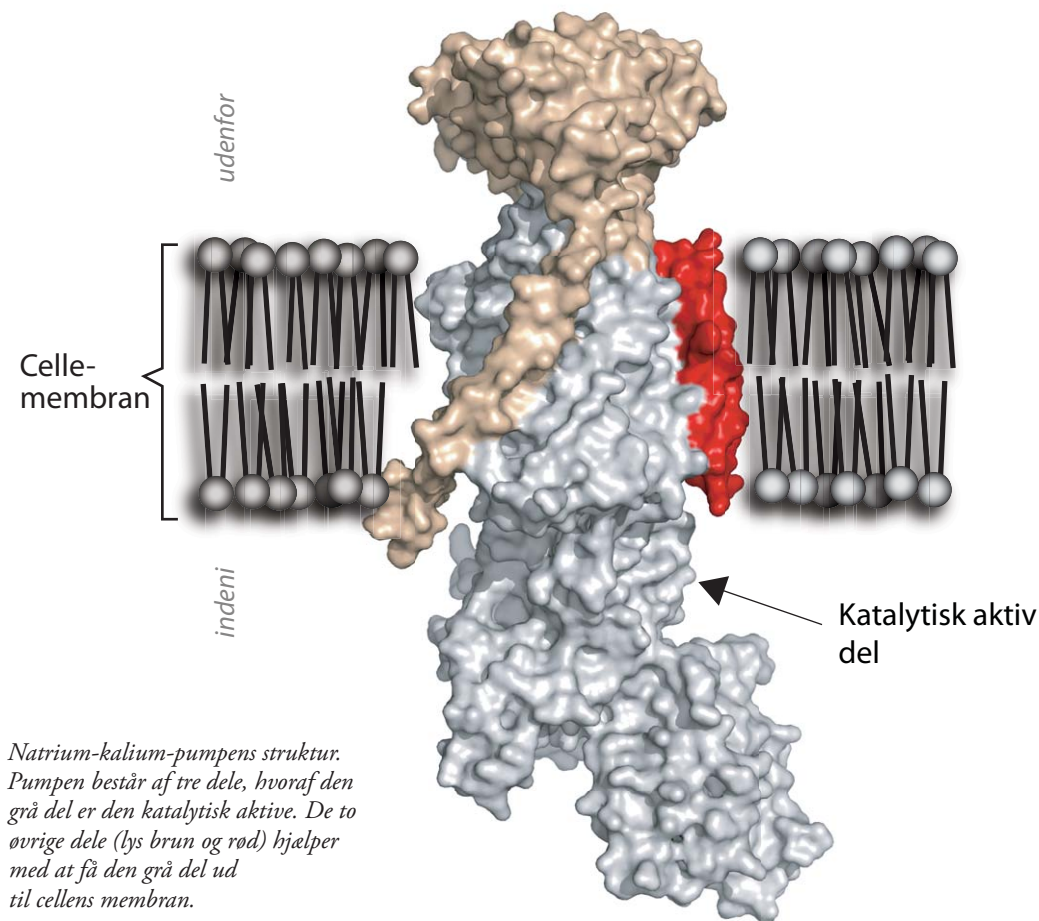
Natrium og kalium er to af de vigtigste ioner i kroppen, og vi bruger omkring en fjerdedel af vores tilgængelige energi på hele tiden at pumpe natrium ud af cellerne og kalium ind. På den måde sørger pumpen for, at

der er potentiel energi over cellemembranen, som kan udnyttes af en lang række andre processer. Man kan forestille sig en iongradient over en membran helt som en vandgradient over en dæmning; der er meget på den ene side, et uigennemtrængeligt lag i midten og lidt på den anden side. Hvis man laver et hul i midterlaget, vil ionerne strømme igennem fra der, hvor der er mange, til der, hvor der er få. Da natrium-kalium-pumpen pumper to forskellige ioner to forskellige steder hen, skaber den på samme tid to slags gradienter, så der er både et pres på cellen udefra af natrium og et pres indefra af kalium. Derudover er natriumgradienten stejlere end kaliumgradienten, så der er flest positive ladninger på ydersiden, og det betyder, at der også er en spændingsforskel over membranen, som kan udnyttes ligesom spændingsforskellen i en stikkontakt.

Man kan få et uital af maskiner til at køre på energien fra en vanddæmning eller fra en stikkontakt, og tilsvarende bruger cellen både iongradienterne og spændingsforskellen over membranen til alle mulige processer – hurtig signalering, optag af næringsstoffer, regulering af andre ioner og kontrol af volumen.

Fire slags pumper

Ligesom virksomheden Grundfos producerer mange forskellige vandpumper, der overordnet kan det samme, udtrykker kroppen også forskellige natrium-kalium-pumper med den samme basale funktion. Der er både en all-round pumpe, som findes i alle celler, og en helt specialiseret pumpe, der kun findes i testiklerne, hvor den muliggør sædcellers svømning. Og så er der to pumper, som bl.a. er udtrykt i forskellige dele af hjernen, for netop neuroner har i særligt høj grad brug for at kunne sende hurtige signaler til hinanden. Faktisk bruges næsten tre fjerdedele af den tilgængelige energi i hjernen blot til at drive natrium-kalium-pumperne.



Natrium-kalium-pumpens struktur. Pumpen består af tre dele, hvoraf den grå del er den katalytisk aktive. De to øvrige dele (lys brun og rød) hjælper med at få den grå del ud til cellens membran.

Svækkede pumper kan give migræne ...

Mutationer i en af de hjerne-specifikke pumper kan give en særlig type migræne med aura, hvor den ene side af kroppen bliver følelsesløs og svag eller lammet i løbet af et anfald. Derudover oplever patienterne de typiske symptomer for migræne med aura: stærk, pulserende smerte, ekstrem følsomhed over for lys og lyde, forvirring og svækket bevidsthed kombineret med synsforstyrrelser som hallucinationer, blinde pletter eller flimrende mønstre.

Nye hjernescanningsteknikker har vist, at under auraforløbet spredtes en bølge gennem det visuelle cortex, hvor cellerne er hæmmede, fordi spændingen over deres membraner er betydeligt mindre end den burde være. Det er nærliggende at tænke, at en svækkelse af den pumpe, som netop er nødvendig for at danne spændingen, kan gøre det lettere at danne en sådan bølge af hæmmede celler. Men ubalancen af ioner kan også skyldes

svækkelse af andre enzymer i membranen, f.eks. at der hele tiden lækker natrium ind i cellen pga. en muteret natrium-kanal. Migræne med aura kan

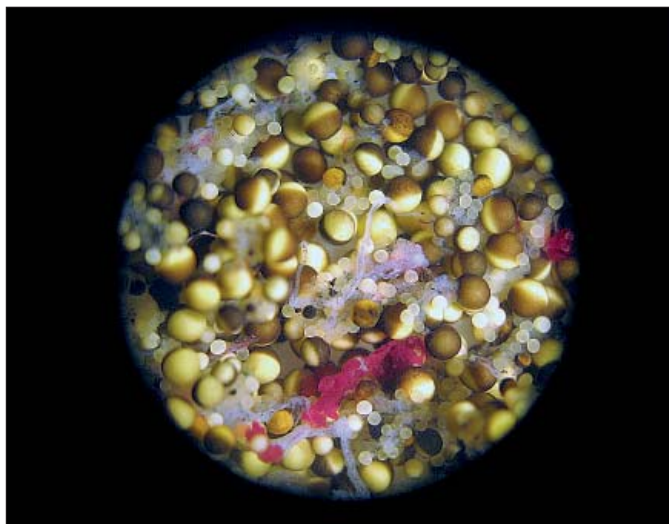
derfor sagtens skyldes, at andre enzymer modarbejder ellers velfungerende natrium-kalium-pumper, så de ikke kan holde membranspændingen.

Natrium og kalium i kosten

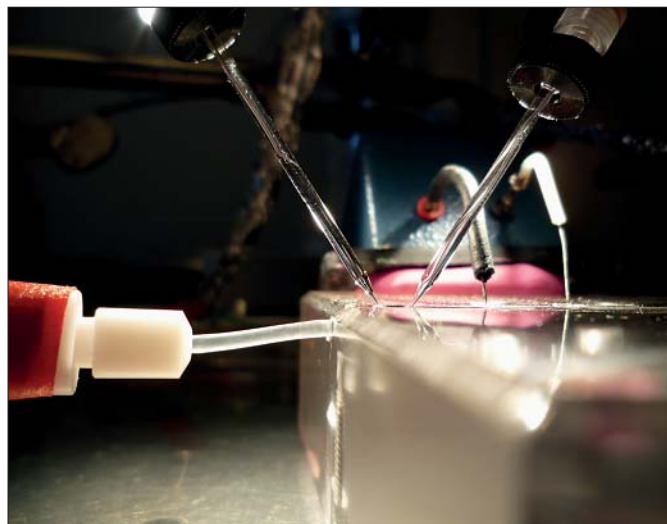
Salt er det samme som NaCl, med mindre man står i et kemisk laboratorium, hvor en lang række forskellige kemiske forbindelser kaldes for salte. Almindeligt bordsalt er vores hovedkilde til natrium. Vi indeholder omkring 100 g natrium og skal helst spise et par gram om dagen, men mange får 5-20 g dagligt. Højt saltindtag kan øge risikoen for især hjerte-/karsygdomme.

Frugt og grønt indeholder meget kalium – faktisk bruges over 90 % af det producerede kalium til kunstgødning, for planterne på marken skal optage deres kalium fra jorden. Vi indeholder ca. 150 g kalium, og anbefalingerne for kaliumindtag ligger omkring 2 g. En almindelig kost vil typisk have tilstrækkeligt kalium, men kaliummangel kan være en uheldig følge af andre sygdomme, ved f.eks. diarre, opkastninger og blødninger og kan bl.a. give krampes og neurologiske symptomer. Kalium bruges til dødelige injektioner, da stærkt forhøjede koncentrationer af kalium i vævet uden for cellerne forstyrrer hjertet.

Især i udviklingslande er dehydrering pga. diarré almindeligt og fører til lave natrium- og kaliumværdier. Der reddes mange liv ved den simple behandling at lade patienterne drikke en opløsning af NaCl, KCl og sukker.



Frøæg er velegnede til studier af natrium-kalium-pumpen. Når frøæggene lige er taget ud af frøen, er de bundet sammen og ligger i en hinde. Efterfølgende bliver de skilt ad, og de største og pæneste sorteres fra til de videre forsøg.



Efter nogle dage har frøæggene indsat pumper i membranen, og de er klar til målinger. To elektroder i fine, tynde glasrør stikkes ind i ægget, og gennem en lille slange sendes forskellige opløsninger hen over ægget. På den måde kan man tænde og slukke for pumperne og dermed for den lille strøm, elektroderne måler.

...og dystonisk parkinsonisme

Hvis den anden af de pumper, som især findes i hjernen, fungerer dårligt pga. mutationer, kan det give en anden og endnu mere invaliderende lidelse, dystonisk parkinsonisme. Typisk har bærerne ingen symptomer, før sygdommen pludselig rammer og udvikler sig i løbet af timer eller få dage, oftest i 15-25 års alderen.

Den udløsende faktor er enten fysisk eller psykisk stress, f.eks. hård motion, feber, for meget alkohol eller fødsel. Sygdommen betyder, at musklerne spænder ufrivilligt som hos spastiske, bevægelserne er langsomme, og patienterne har svært ved at holde balancen, tale og synke.

Der sker ingen eller kun meget begrænset bedring, når sympto-

merne først har sat ind, og man har ingen behandling til patienterne, da de ikke responderer på almindelig Parkinson-medicin. Det tyder på, at det ikke er manglende dopamin, der giver de parkinsonlignende symptomer, men hvad det så skyldes vides ikke. Og det er stadig et mysterium, hvordan sygdommen kan udvikle sig så pludseligt og livsvarigt.

Pumperne kan undersøges i frøæg

For at lære mere om, hvordan sygdomsmutationerne påvirker pumpen, har vi undersøgt dem vha. frøæg. Den afrikanske sporefrø (*Xenopus laevis*) er en populær modelorganisme, fordi dens æg er nogle kæmpe celler med en diameter på omkring 1 mm. Det gør dem ikke mindst velegnede til at undersøge membranproteiner, der leder strømme, som f.eks. natrium-kalium-pumpen. Den pumper nemlig i hver cyklus tre natriumioner ud af cellen og to kaliumioner ind, og da begge ioner har ladningen +1, pumpes der netto en positiv ladning ud af cellen pr. cyklus. Hvis man har en celle med tilstrækkeligt mange natrium-kalium-pumper, danner de en strøm, der er kraftig nok til, at den kan måles med følsomme elektroder. Eftersom en stor celle har plads til mange flere pumper i sin membran end en lille celle, er det nemmest at måle natrium-kalium-pumpers elektriske aktivitet i store celler som frøæggene. Dette er meget anderledes for ionkanaler, som leder meget kraftigere strømme, så selv enkeltmolekylers aktivitet kan måles.

For at undersøge de menneskelige natrium-kalium-pumper

Smukke planter og engelske mord

En af Agatha Christies yndlingsgifte var *digitalis*, et stof fra planten fingerbøl, som også er et af de ældst kendte lægemidler. I små mængder har digitalis været brugt som hjertemedicin i over 200 år, og der er tegn på, at selv de gamle egyptere brugte løgplanten skilla, som indeholder et tilsvarende stof, imod hjerteproblemer. Stofferne kaldes kardiotoniske steroider eller hjerteglykosider, og de virker ved at hæmme natrium-kalium-pumpen; i små mængder kan det være gavnligt for hjerterytmen, men det bliver uvægerligt farligt, hvis man indtager for meget – som James Bond, der i *Casino Royale* får en drink under pokerspillet forgiftet med digitalis. Heldigvis har han husket antistoffer til giften og en defibrillator i handskerummet. I virkelighedens verden opstår digitalisforgiftninger oftest, fordi planten let forveksles med den spiselige kulsyre.

Også mange tudser udskil-

ler kardiotoniske steroider på huden; så lærer de større rovdyr at holde sig fra dem. Et lignende trick bruger et andet dyr, korallen *Palythoa toxica*, som lever i en lille tidevandssø på den hawaiianske ø Maui. Den laver et af de allergeftigste stoffer, man kender, nemlig palytoxin (se også artiklen om Nobelprisen i kemi i dette nummer). Det fortælles, at de lokale havde brugt korallen til at smøre deres pilespidser, og længe holdt de søens placering hemmeligt, fordi de mente, det bragte uheld at opsøge den. I 1961 lykkedes det forskere fra Hawaiis universitet at få en lokal til at udpege stedet, så de kunne tage en prøve. Samme dag brændte universitetets marinbiologiske institut ned!

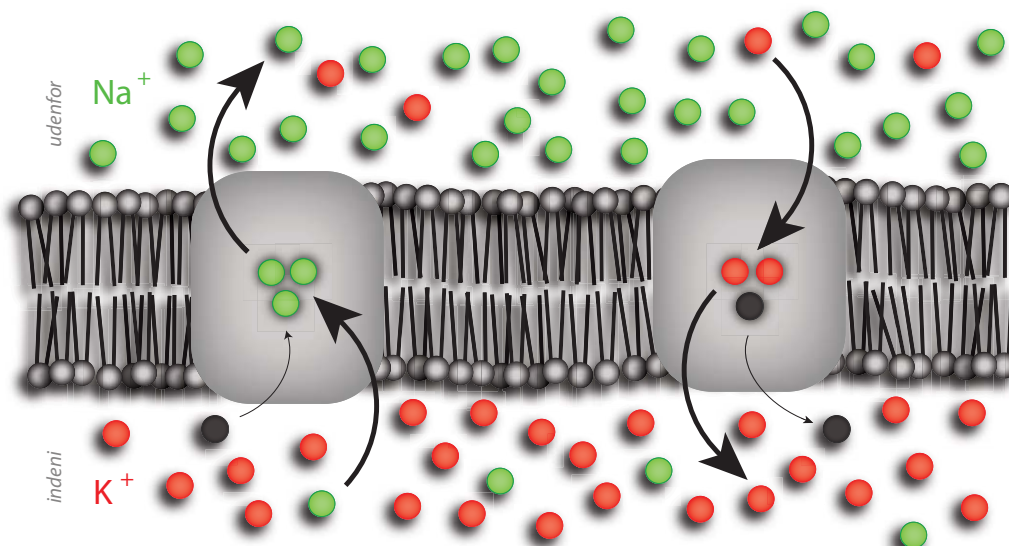
Blot få mikrogram palytoxin kan på få minutter slå et menneske ihjel. Stoffet er så giftigt, fordi det åbner natrium-kalium-pumpen, og derved lader ioner strømme lige igennem, hvilket



Foto: Philip Jørgensen

Planten fingerbøl (her *Digitalis purpurea*)

dræber cellen. For at kunne sende ionerne de rigtige steder hen skal pumpen kunne lukke på begge sider af membranen, og den skal altid være lukket mindst på den ene side, ligesom en sluse i et rumskib. Det er langt værre for en celle at have blot en enkelt åben pumpe end flere, der ikke pumper, fordi f.eks. digitalis har sat dem i stå.



Den nye model for natrium-kalium-pumpen. I hver runde af transportcyklen pumper tre natriumioner (grønne) ud og to kaliumioner (røde) ind i cellen. Støkiometrien af 3:2 ioner tyder umiddelbart på, at når pumpen binder kalium, er der et ionbindingssted, der mangler en ion. Det ville være energetisk ufavorabelt, og det undgås ifølge vores model, ved at en løst proton i cellen virker som et stempel, der skubber natrium ud og optager det ledige ionbindingssted, når de to kaliumioner binder.

med eller uden de forskellige mutationer laver vi først kunstigt et RNA-molekyle, der indeholder instruktionerne til at danne den pumpe, vi gerne vil undersøge. RNA'et sprøjtes ind i æggene med en fin glaskanyle, og et par dage senere vil den menneskelige natrium-kalium-pumpe sidde i membranen.

Pumpen drevet af et stempel

Selvom proteiner som natrium-kalium-pumpen er nogle meget store molekyler, er de stadig så små, at det er svært at finde ud af, hvordan de er opbygget. Og det er grunden til, at der skulle gå 50 år fra pumpens opdagelse til det blev kortlagt, hvordan den egentlig så ud.

Pumpen har tre kamre, som enten binder natrium eller kalium, og når pumpen kører, bliver kamrene skiftevis åbnet mod cellens indre og mod det omgivende miljø. Når kamrene er åbne indadtil, sætter tre natriumioner sig ind, og når pumpen derpå åbner udadtil, tømmes de for natrium, og to kaliumioner binder i stedet. Så lukkes kamrene for atter at åbnes mod cellens indre, hvor de to kaliumioner frigives og tre natriumioner igen kan binde. Denne cyklus har man kendt til i mange år, men det var først med kortlæg-

ningen af strukturen af pumpen, at vi fik en ide til, hvor de vigtige elementer sidder.

Det inspirerede til nye forsøg, og ud fra vores undersøgelser af bl.a. pumper med sygdomsmutationer har vi foreslået en ny mekanisme for pumpen, som forklarer, hvordan den undgår at fylde det tredje kammer med kalium, når den åbner udadtil: idet de tre natriumioner skal frigives, ryger en proton fra cellen ind i det tredje kammer. Protonen virker som et stempel, der skubber natriumionerne ud, og samtidig sørger det for, at der kun er to ledige kamre til kaliumionerne. Vores forsøg viser også, at mutationer, der giver migræne eller dystonisk parkinsonisme, fører til defekter i denne. Dette understreger samtidig mekanismens vigtighed.

Fra molekyle til menneske

Mutationer i natrium-kalium-pumpen er ganske sjældne, men pumpen er også involveret i en række andre sygdomme, som gør den til et potentielt mål for lægemidler – iskæmi, slagtilfælde, forhøjet blodtryk, svangerskabsforgiftning og visse kræfttyper. Desuden kunne det være gavnligt med mere specialiserede pumpehæmmere, for blot en svag overdosis af de kardiotoniske steroider, som har været

en udbredt brugt hjertemedicin, virker som gift.

Det er langt lettere at påvirke en maskine, hvis man ved, hvordan den er opbygget, og forstår, hvordan den fungerer. Det er desværre ualmindeligt svært at finde strukturen af de små maskiner, der sidder i vores membraner, fordi de meget hellere vil være i fedt end i vand – af alle kendte proteinstrukturer er under 2 % membranproteiner, selvom de udgør ca. 30 % af proteinerne. Ydermere virker over 60 % af alle lægemidler på membranproteiner – dels fordi de er vigtige for cellernes kommunikation med omverdenen, dels fordi de er let tilgængelige, da medicinen kan nå dem, uden at skulle ind i cellen. Et indblik i proteinets opbygning og mekanisme letter udviklingen af forbedrede eller nye lægemidler betydeligt. Dermed kan man nemlig rationelt designe stoffer til at trykke på de rigtige knapper.

Vi håber, at de helt grundvidenskabelige fremskridt, som er kommet med de seneste års struktur- og funktionsstudier af pumpen, vil kunne bruges til at udvikle nye stoffer, som påvirker pumpen. På længere sigt vil den større indsigt forhåbentligt kunne hjælpe de patienter, som lider under, at kroppens vitale pumper svigter. ■

Om forfatteren



Hanne Poulsen er post doc
Tlf.: 30254065
E-mail: hp@mb.au.dk



Michael Jakob Clausen er
ph.d.-studerende
Tlf.: 61306486
E-mail: mjc@mb.au.dk

Begge ved Grundforskningscenteret Pumpkin
Molekylærbiologisk Institut,
Aarhus Universitet

Videre læsning

Poulsen H, m.fl. (2010): *Neurological disease mutations compromise a C-terminal ion pathway in the Na(+)/K(+)-ATPase*. *Nature* 467(7311):99-102. *Epub* 2010 Aug 15.

Morth JP, m.fl. (2007): *Crystal structure of the sodium-potassium pump*. *Nature* 450(7172):1043-9.