



УДК 577.353

© 2009

О. В. Оглобля, А. М. Шут, Ю. І. Прилуцький

## Моделі $\text{Ca}^{2+}$ -залежної регуляції скорочення скелетного м'яза

(Представлено членом-кореспондентом НАН України Є. Ф. Венгером)

*Розглядається вплив іонів  $\text{Ca}^{2+}$  на процес генерації сили в актин-міозиновому комплексі. Запропоновано дві незалежні моделі можливого зв'язку між зміною концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  і силовим відгуком на цю зміну, побудовані з використанням методів теорії ймовірності та фізичної кінетики.*

Скорочення скелетного м'яза є складним клітинним процесом, у регуляції якого задіяний цілий ряд компонентів. Ініціює скорочення нервовий імпульс, внаслідок чого відбувається звільнення іонів кальцію ( $\text{Ca}^{2+}$ ) з цистерн саркоплазматичного ретикулума. Іони  $\text{Ca}^{2+}$  зв'язуються з регуляторними кальційспецифічними центрами тропоніну С (TnC), які знаходяться в N-доміні молекули, і таким чином генерують скорочення скелетного м'яза. Вважається, що тропоніновий комплекс [1] передає кальцієвий сигнал на інші білки тонкого філамента за рахунок сильної  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної взаємодії між TnC і тропоніном I. На сьогодні відома первинна структура TnC скелетних м'язів кількох видів ссавців, птахів і деяких безхребетних [2]. Визначено також розташування і кількість  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючих центрів у молекулі TnC в скелетних м'язах [1, 3]: їх усього чотири. Проведені чисельні розрахунки константи зв'язування іонів  $\text{Ca}^{2+}$  з TnC показують [3, 4], що з цих чотирьох центрів два постійно зв'язані з іонами  $\text{Ca}^{2+}$  і лише два (I та II) є регуляторними. Більше того, на один іон  $\text{Ca}^{2+}$  припадає близько 10 молекул TnC [4], тобто має місце "дефіцит" іонів  $\text{Ca}^{2+}$ . Отже, можна припустити, що іони  $\text{Ca}^{2+}$ , взаємодіючи з регуляторними центрами I і II TnC скелетного м'яза, служать лише тим "спусковим гачком", який викликає подальше м'язове скорочення. Зрозуміло, що пряма експериментальна перевірка цього факту є надзвичайно важким завданням. Тому ми поставили собі за мету визначити функціональну роль специфічних  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючих центрів (I та II) TnC у межах запропонованих стохастичної та кінетичної моделей, які описують поодинокі скорочення ізольованого скелетного м'яза за ізометричних умов, що спостерігається в класичних експериментах [5].

**Стохастична модель.** Взаємодія двох основних скоротливих білків — актину і міозину — можлива за умови, коли два (I та II)  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючі центри у TnC зв'язані з іонами  $\text{Ca}^{2+}$ . Позначимо через  $p$  ймовірність того, що кожен окремо центр незалежно від іншого

зв'язаний з іоном  $\text{Ca}^{2+}$ , а через  $q = 1 - p$ , навпаки, — імовірність того, що кожен окремо з цих центрів не зв'язаний з іоном  $\text{Ca}^{2+}$ . У цьому випадку ймовірність того, що ці два центри у ТпС зв'яжуться з іонами  $\text{Ca}^{2+}$  може бути виражена так:

$$W = p^2. \quad (1)$$

Вивчимо динаміку функції  $p(t)$ , яка по суті визначає кінетику сорбції іонів  $\text{Ca}^{2+}$  на регуляторні центри ТпС:

$$\frac{dp}{dt} = -\alpha p + \beta q = -(\alpha + \beta)p + \beta, \quad (2)$$

де  $\alpha > 0$  і  $\beta > 0$  — швидкості десорбції та адсорбції іонів  $\text{Ca}^{2+}$  на ТпС відповідно.

Розв'язком диференціального рівняння першого порядку (2) з урахуванням початкової умови  $p(0) = 0$  є функція

$$p(t) = \frac{\beta}{\alpha + \beta} [1 - e^{-(\alpha + \beta)t}]. \quad (3)$$

Припускаючи, що сила скорочення м'яза  $F(t)$  пропорційна, з одного боку, імовірності того, що спільна дія двох іонів  $\text{Ca}^{2+}$  на “спусковий гачок” — ТпС — активує скорочення актоміозинового комплексу (вирази (1) і (3)), а з іншого — імовірності

$$q = 1 - p = 1 - \frac{\beta}{\alpha + \beta} [1 - e^{-(\alpha + \beta)t}],$$

пов'язаний з можливим відтоком іонів  $\text{Ca}^{2+}$  хоча б з одного центру, внаслідок чого актоміозинний комплекс не “працює” (сила скорочення дорівнює нулю), можна записати

$$F(t) = \tilde{F} \frac{\beta^2}{(\alpha + \beta)^2} \left( 1 - \frac{\beta}{\alpha + \beta} (1 - e^{-(\alpha + \beta)t}) \right) (1 - e^{-(\alpha + \beta)t})^2. \quad (4)$$

Невідомі кінетичні параметри  $\tilde{F}$ ,  $\alpha$  і  $\beta$ , що фігурують у виразі (4), пов'язані між собою наведеними нижче трансцендентними алгебраїчними рівняннями, які є наслідком існування екстремуму функції  $F(t)$  [5]:

$$\frac{dF(t)}{dt} = 0 \quad \Rightarrow \quad t_{\max} = \frac{1}{\alpha + \beta} \ln \left( \frac{3\beta}{\beta - 2\alpha} \right), \quad \tilde{F} = \frac{27}{4} F_{\max}, \quad (5)$$

причому завжди  $\beta > 2\alpha$ , що і зрозуміло з фізичних міркувань: швидкість адсорбції іонів  $\text{Ca}^{2+}$  на ТпС повинна перевищувати швидкість десорбції цих іонів і, навпаки, тривалість десорбції іонів  $\text{Ca}^{2+}$  на ТпС ( $1/\alpha$ ) повинна перевищувати час адсорбції цих іонів ( $1/\beta$ ).

Величини  $t_{\max}$  (час, за який сила скорочення м'яза досягає свого максимального значення) і  $F_{\max}$  (максимальне значення сили скорочення м'яза) визначаються з експерименту [5]. Наприклад, відомо, що для фазних скелетно-м'язових волокон  $t_{\max} < 0,1$  с, і тому маємо ще одне додаткове співвідношення для оцінки кінетичних параметрів  $\alpha$  і  $\beta$ :

$$t_{\max} = \frac{1}{\alpha + \beta} \ln \left( \frac{3\beta}{\beta - 2\alpha} \right) < 0,1. \quad (6)$$

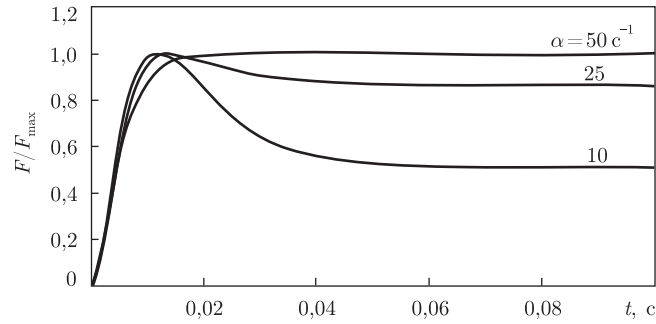


Рис. 1. Розрахована за формулою (7) сила скорочення скелетного м'яза (на одиницю максимальної амплітуди) як функція часу за фіксованого значення параметра  $\beta = 100 \text{ c}^{-1}$  ( $1/\beta = 10 \text{ мс}$  [7]) та різних значень кінетичного параметра  $\alpha$

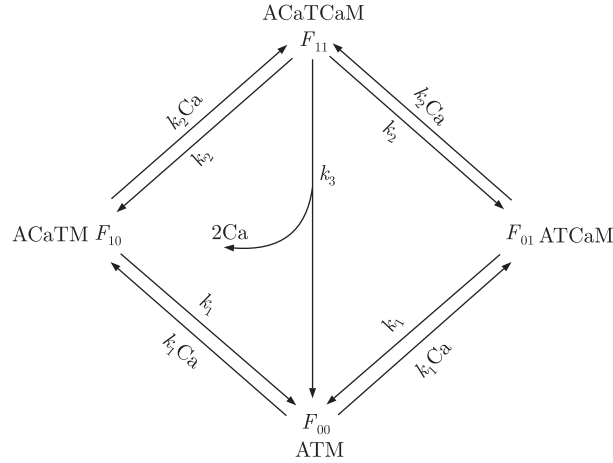


Рис. 2. Схема взаємодії двох іонів кальцію з актин-міозиновим комплексом

Отже, шукана функціональна залежність  $F(t)/F_{\max}$  визначається так:

$$\frac{F(t)}{F_{\max}} = \frac{27}{4} \frac{\beta^2}{(\beta + \alpha)^2} \left( 1 - \frac{\beta}{\alpha + \beta} (1 - e^{-(\alpha + \beta)t}) \right) (1 - e^{-(\alpha + \beta)t})^2. \quad (7)$$

На рис. 1 наведені теоретично розраховані за формулою (7) функціональні залежності  $F(t)/F_{\max}$  за фіксованого значення швидкості адсорбції іонів  $\text{Ca}^{2+}$  на ТпС (параметр  $\beta$ ) та за різних значень швидкості десорбції іонів  $\text{Ca}^{2+}$  на ТпС (параметр  $\alpha$ ). Як бачимо, зі збільшенням величини  $\alpha$  збільшується значення часу  $t_{\max}$  і криві зміщуються праворуч. За критичного співвідношення  $\beta = 2\alpha$  ( $\alpha = 50 \text{ c}^{-1}$ ) крива максимуму не має, а виходить на плато.

**Кінетична модель.** Як відомо, безкальцієва ділянка актину та тропоміозину (АТМ) при приєднанні двох іонів  $\text{Ca}^{2+}$  переходить у конформацію, здатну розвивати зусилля (АСаТСаМ). Можна припустити, що цей перехід відбувається двома можливими шляхами (рис. 2) через приєднання спочатку одного іона кальцію між актином та тропоміозином (АСаТМ) або між тропоніном та міозином (АТСаМ) (за аналогією щодо кінетики ферментативних реакцій з урахуванням кооперативних властивостей ферментів [6]). Також ми припускаємо, що в процесі розвитку зусилля ці два іони вивільняються — цьому процесу відповідає стрілка згори донизу. Усім вищезгаданим процесам відповідають швидкості  $k_1$ ,

$k_2$ ,  $k_3$ , а зворотним процесам — швидкості зі знаком мінус в індексі, наприклад  $k_{-1}$ . Вважаємо, що в першому наближенні для спрощення розрахунків зворотними швидкостями можна знехтувати і покласти  $k_{-1} = k_{-2} = 0$ .

Позначимо густину іонів  $\text{Ca}^{2+}$  у точці на відстані  $x$  від точки викиду іонів  $\text{Ca}^{2+}$  із саркоплазматичного ретикулума через  $C(t, x)$ , а відповідні концентрації АТМ —  $F_{00}(t, x)$ , АСаТМ —  $F_{10}(t, x)$ , АТСаМ —  $F_{01}(t, x)$  і АСаТСаМ —  $F_{11}(t, x)$ . У початковий момент часу покладемо  $F_{01}(0, x) = F_{10}(0, x) = F_{11}(0, x) = 0$ ,  $F_{00}(0, x) = F_0$  та  $C(0, x) = C_0 e^{-\alpha x^2}$  (тут ми припускаємо, що в початковий момент часу за рахунок звільнених із саркоплазматичного ретикулума іонів  $\text{Ca}^{2+}$  створено дуже вузький ( $\alpha = 100$ ) гауссівський профіль концентрації з максимумом у точці їх викиду  $x = 0$ ). Тоді, враховуючи схему, зображену на рис. 2, легко отримати диференціальні рівняння на ці величини:

$$\begin{aligned} F'_{00} &= k_3 F_{11} - 2k_1 F_{00} C, & F'_{01} &= k_1 F_{00} C - k_2 F_{01} C, \\ C' &= 2k_3 F_{11} - k_1 F_{00} C - k_2 F_{01} C - k_2 F_{10} C. \end{aligned} \quad (8)$$

Оскільки у початковий момент часу  $F_{01}(0, x) = F_{10}(0, x)$  і рівняння (див. рис. 2) симетричні відносно перестановки індексів  $01 \leftrightarrow 10$ , то ця симетрія зберігається і для будь-якого моменту часу:  $F_{01}(t, x) = F_{10}(t, x)$ . Це дозволяє не записувати рівняння для величини  $F_{10}(t, x)$ . Також легко бачити, що  $F_{00}(t, x) + F_{10}(t, x) + F_{01}(t, x) + F_{11}(t, x) = F_0$ , звідки  $F_{11}(t, x) = F_0 - F_{00}(t, x) - 2F_{01}(t, x)$ . Зважаючи на сказане, отримуємо систему рівнянь

$$\begin{aligned} F'_{00} &= k_3(F_0 - F_{00} - 2F_{01}) - 2k_1 F_{00} C, & F_{00}(0, x) &= F_0, \\ F'_{01} &= k_1 F_{00} C - k_2 F_{01} C, & F_{01}(0, x) &= 0, \\ C' &= 2k_3(F_0 - F_{00} - 2F_{01}) - 2k_1 F_{00} C - 2k_2 F_{01} C, & C(0, x) &= C_0 e^{-\alpha x^2}. \end{aligned} \quad (9)$$

Також врахуємо, що іони кальцію можуть дифундувати уздовж м'яза [7]. Для цього в рівнянні для величини  $C(t, x)$  допишемо дифузійний доданок  $D \partial^2 C(t, x) / \partial x^2$ , де  $D$  — коефіцієнт дифузії іонів кальцію уздовж м'язового волокна. Після цього система рівнянь (9) набуде такого вигляду:

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} F_{00}(t, x) &= k_3(F_0 - F_{00}(t, x) - 2F_{01}(t, x)) - 2k_1 F_{00}(t, x) C(t, x), \\ F_{00}(0, x) &= F_0, \\ \frac{\partial}{\partial t} F_{01}(t, x) &= k_1 F_{00}(t, x) C(t, x) - k_2 F_{01}(t, x) C(t, x), \\ F_{01}(0, x) &= 0, \\ \frac{\partial}{\partial t} C(t, x) &= 2k_3(F_0 - F_{00}(t, x) - 2F_{01}(t, x)) - 2k_1 F_{00}(t, x) C(t, x) - \\ &\quad - 2k_2 F_{01}(t, x) C(t, x) + D \frac{\partial^2 C(t, x)}{\partial x^2}, \\ C(0, x) &= C_0 e^{-\alpha x^2}. \end{aligned} \quad (10)$$

Припускаючи періодичність усіх невідомих концентрацій за довжиною філаменту  $L$ , а саме  $C(t, -L) = C(t, L)$ ,  $F_{00}(t, -L) = F_{00}(t, L)$ ,  $F_{01}(t, -L) = F_{01}(t, L)$ , маємо задачу Коші, яку розв'язуємо чисельно за допомогою програми, написаною для пакета “Mathematica”.

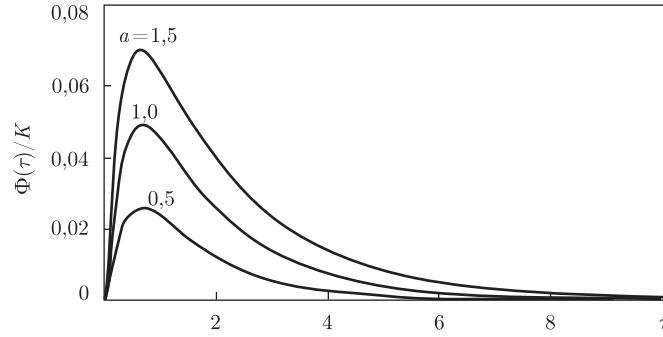


Рис. 3.  $\Phi(\tau)/K$  як функції часу  $\tau$  за різних значень параметрів  $a$ . Інші параметри фіксовані:  $c_0 = 6$ ,  $f = 2$ ,  $d = 1$

У розрахунках покладемо  $L = 1$ , тобто будемо працювати в системі одиниць, де довжина вимірюється у довжинах філамента. Але перед цим цю задачу спочатку варто дещо спростити шляхом обезрозмірення змінних. Перейдемо до безрозмірної концентрації та безрозмірного часу:  $c = C/\varphi$ ,  $f_0 = F_{00}/\varphi$ ,  $f_1 = F_{01}/\varphi$ ,  $f = F_0/\varphi$ ,  $\tau = t/\theta$ , де величини  $\varphi$ ,  $\theta$  оберемо так, щоб спростити рівняння:  $\theta = 1/k_3$ ,  $\varphi = k_3/k_1$ . Тоді рівняння (10) набудуть вигляду

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial \tau} f_0(\tau, x) &= f - f_0(\tau, x) - 2f_1(\tau, x) - 2f_0(\tau, x)c(\tau, x), & f_0(0, x) &= f, \\ \frac{\partial}{\partial \tau} f_1(\tau, x) &= f_0(\tau, x)c(\tau, x) - af_1(\tau, x)c(\tau, x), & f_1(0, x) &= 0, \\ \frac{\partial}{\partial \tau} c(\tau, x) &= 2(f - f_0(\tau, x) - 2f_1(\tau, x)) - 2f_0(\tau, x)c(\tau, x) - 2af_1(\tau, x)c(\tau, x) + d \frac{\partial^2 c(\tau, x)}{\partial x^2}, \\ c(0, x) &= c_0 e^{-\alpha x^2}. \end{aligned} \quad (11)$$

Тут  $a = k_2/k_1$ ,  $d = D/k_3$ . Як бачимо, якщо не враховувати розтяг графіка по осях часу та концентрації, форма графіків визначається лише двома параметрами —  $a$ ,  $d$ .

Силу, яку розвиває м'яз, ми розраховували як інтегральне зусилля, тобто сума зусиль, що розвиваються в кожній точці філамента, припускаючи, що локальне зусилля пропорційне густині АСаТСаМ —  $F_{11}(t, x)$ . Тоді сумарне зусилля буде пропорційне інтегралу від цієї густини:  $\Phi(\tau) = K \int_{-L}^L f_1(\tau, x) dx$ . Результати розрахунку за цією формулою, а саме сили, поділеної на коефіцієнт пропорційності  $\Phi(\tau)/K$ , як функції часу  $\tau$ , наведені на рис. 3.

Як бачимо, зі збільшенням параметра  $a$  зростає значення максимальної сили. Зі збільшенням коефіцієнта дифузії максимальна сила, яку розвиває саркомер, зменшується, як і час, за який вона досягається. Вплив збільшення констант  $k_1$  та  $k_3$  має такий самий ефект. При збільшенні константи  $k_2$  зростає максимальне значення сили, а час, при якому це значення досягається, майже не змінюється.

На рис. 4 наведено просторову (вздовж філамента) залежність концентрації АСаТСаМ —  $F_{11}(t, x)$  у різні моменти часу. Як бачимо, спочатку спостерігається зростання її максимального значення в нулі, а потім поступове спадання.

Отже, у рамках запропонованих двох незалежних підходів (стохастична та кінетична моделі) щодо участі іонів  $\text{Ca}^{2+}$  і надмолекулярного білкового комплексу актинового філамента в процесі запуску м'язового скорочення вдалося досить добре якісно описати пооди-

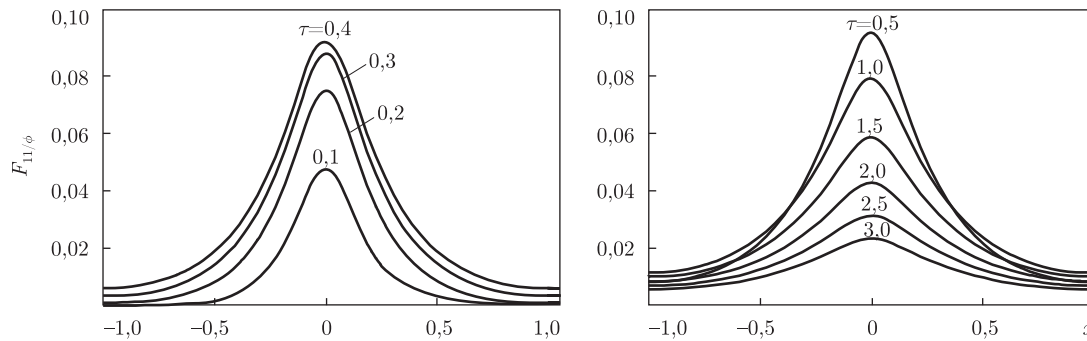


Рис. 4. Залежність  $F_{11}(\tau, x)/\varphi$  від  $x$  для різних моментів часу  $\tau$ : а – 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; б – 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0

ноке скорочення ізольованого скелетного м'язу за ізометричних умов, яке спостерігається в класичних експериментах [5]. Отримані чисельні оцінки для параметрів застосованих моделей, які характеризують кінетику асоціації та дисоціації актоміозинового комплексу (стохастична модель) та визначають співвідношення між константами відповідних швидкостей реакції та коефіцієнта дифузії іонів кальцію (кінетична модель), безперечно можуть становити інтерес для експериментаторів.

1. Филатов В. Л., Катруха А. Г., Буларгина Т. В., Гусев Н. Б. Тропонин: строение, свойства и механизм функционирования // Биохимия. – 1999. – **64**. – С. 1155–1174.
2. Гусев Н. Б. Исследование структуры и механизма функционирования тропонина и кальмодулина методом “белковой” инженерии // Там же. – 1995. – **60**. – С. 414–417.
3. Пермяков Е. А. Парвальбумины и родственные кальцийсвязывающие белки. – Москва: Наука, 1985. – 190 с.
4. Мирошниченко М. С., Гаврилей Д. В. Регуляція скорочення-розслаблення скелетного м'язу // Сучасні проблеми біофізики. – Донецьк: Лебідь, 2001. – С. 35–49.
5. Pollak G. H. Muscles and Molecules: Uncovering the Principles of Biological Motion. – Seattle: Ebner and Sons, 1990. – 300 p.
6. Волькенштейн М. В. Биофизика. – Москва: Наука, 1988. – 592 с.
7. Мирошниченко Н. С., Шуба М. Ф. Молекулярная организация сократительного аппарата и механика мышечного сокращения // Успехи физиол. наук. – 1990. – **21**. – С. 3–18.

Київський національний університет  
ім. Тараса Шевченка  
Київський національний університет  
технологій та дизайну

Надійшло до редакції 13.08.2008

**O. V. Ogloblya, A. M. Shut, Yu. I. Prylutsky**

### **Models of the $\text{Ca}^{2+}$ -dependent regulation of the skeletal muscle contraction**

*The influence of  $\text{Ca}^{2+}$  ions on the process of force generation in the actin-myosin complex is examined. Two independent models of a possible connection between a change in the ion  $\text{Ca}^{2+}$  concentration and the force response on this change are constructed with the use of the methods of probability theory and physical kinetics.*