

Механико-химические автоволны в живых клетках *

Николаев Д.П., Теплов В.А., Божкова В.П., Романовский Ю.М.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

Институт проблем передачи информации РАН

Аннотация

Рассмотрены математические модели для механико-химических автоволн, возникающих в гигантской многоядерной клетке плазмодия *Physarum polycephalum* и в яйцеклетках лягушки *Rana temporaria*. Модели представляют собой 1D и 2D системы параболических уравнений с нелинейными "источниками" и "стоками" (типа реакция-диффузия). Вид моделей обоснован экспериментальными данными. Получены оригинальные результаты, которые позволили для плазмодия объяснить влияние локальных неоднородностей, вызванных введением отравляющих веществ, на автоволновые режимы плазмодия. Для яйцеклеток найдены условия возникновения бегущих импульсов в их поверхности. Поставлены задачи на исследование режимов автоволн с переменными граничными условиями.

1 Введение

Автоколебательные и автоволновые процессы (АВП), наблюдающиеся в живых клетках, биологических тканях и даже в многоклеточных организмах, давно привлекают внимание физиков и математиков. Наиболее успешно промоделированы АВП в нервных клетках и возбудимых тканях. Автоволновая самоорганизация подвижности живых клеток и, в частности, амебoidной подвижности, – более молодая область математического моделирования. Подвижность присуща не только амебам, но и разным другим животным клеткам: клеткам соединительной ткани – фибробластам, нейронам, недифференцированным клеткам ранних эмбрионов, раковым клеткам и многим другим. Такого рода движения определяются большим набором переменных разной природы: механико-химических, связанных с пассивными и активными напряжениями клеточных поверхностей, электрических, определяющих изменения мембранных потенциалов, гидродинамических, управляющих потоками цитоплазмы. При этом все эти многообразные явления объединены в единую пространственно-временную систему.

В настоящей работе мы ограничимся рассмотрением двух моделей, связанных с внутриклеточными механико-химическими АВП. На этих примерах будет показано, с какими типами дифференциальных уравнений и с какими переменными имеет дело современная теория подвижности живых клеток. В обеих моделях существенную роль играет одна переменная – концентрация ионов кальция Ca^{2+} , находящихся в свободном состоянии либо

* Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, гранты 97-04-49173, 97-04-49451, 97-04-48499 и поддержке Научных школ России, грант 96-15-97782.

в гелеобразной эктоплазме (поверхности клетки), либо в золеобразной эндоплазме (цитоплазме). Первая модель описывает автоволны (АВ) в многоядерном плазмодии *Physarum polycephalum*, а вторая – в оплодотворенных яйцеклетках лягушки *Rana temporaria*. Хотя первая модель исследована более детально, связь между существенными переменными Ca^{2+} и механическими напряжениями формулируется в ней в общем виде, исходя из феноменологических соображений. Вторая модель вводит в рассмотрение промежуточную переменную – концентрацию инозитол-1,4,5-трисфосфата (ИЗФ), которая управляет функционированием кальциевых каналов и, возможно, осуществляет связь между Ca^{2+} и механикой.

2 Автоволны в плазмодии *Physarum polycephalum*

2.1 1D и 2D однородные модели плазмодия

Характерный период таких процессов для многих одноклеточных организмов и клеток тканей животных лежит в пределах 1-5 мин. Наиболее наглядно автоволны выражены в гигантской многоядерной клетке – плазмодии *Physarum polycephalum* (см. [1, 2]). Периодические локальные сокращения и расслабления ее гелеобразных стенок (эктоплазмы) приводят к интенсивным возвратно-поступательным потокам жидкой эндоплазмы, что обеспечивает не только внутриклеточное перемешивание, но также распластывание и миграцию плазмодия, в ходе которых он морфологически дифференцируется на фронтальную пленку и сеть протоплазматических тяжей (вен), по устройству напоминающих сосуды кровеносной системы. Диаметры крупных тяжей могут достигать 2 мм, а длина – десятков сантиметров. Благодаря огромным размерам эта клетка занесена в книгу рекордов Гиннеса (1988).

Все эти процессы определяются сложными и высокоорганизованными движениями внутриклеточных структур. Активные сокращения в плазмодии, как и во всех амебонидных клетках, обуславливаются присутствием актина и миозина, сократительных белков подобных мышечным. Актин находится в эктоплазме в основном в виде полимеризованных нитей, один конец которых обычно прикреплен к клеточной мембране, а другой свободен. Миозин находится между актиновыми нитями обычно в форме биполярных олигомеров. При взаимодействии актина и миозина возникают тянущие контакты и происходит взаимное скольжение противоположно поляризованных нитей актина относительно миозина, что приводит к деформации и сближению структур, к которым нити присоединены. В этом обзоре мы прежде всего будем говорить об этих внутриклеточных процессах и их математическом описании. Основная идея модели состоит в том, что механическая система плазмодия играет существенную роль в клеточном осцилляторе и глобальная пространственная координация локальных колебаний сократительной активности может достигаться за счет механических (гидродинамических) взаимодействий между различными частями клетки [3]. АВ самоорганизация локальных сокращений в эктоплазме может возникать из-за наличия положительной обратной связи между деформацией и активным напряжением, как это происходит в летательных мышцах насекомых. Однако для возникновения колебательной неустойчивости в амебонидных клетках, в которых инерционные силы очень малы и механическая система имеет низкую добротность, такие обратные связи должны обязательно опосредоваться биохимическими процессами. В нашей модели взаимодействие актина и миозина инициируется увеличением уровня свободного кальция, который, в свою очередь, предполагается зависимым от деформации эктоплазмы. Одно- и двумерные модели описывают волны сокращения эктоплазмы и возвратно-поступательные течения эндоплазмы соответственно

в изолированных длинных тяжах плазмодия и в пленке плазмодия.

При выводе системы уравнений использовались следующие предположения и факты. Эндоплазма – несжимаемая вязкая ньютоновская жидкость; для описания ее течения в одномерном квазистационарном приближении можно использовать формулу Пуазейля, а в двумерном – закон Дарси. Вязкоупругие свойства эктоплазмы описываются реологической моделью Кельвина [4]. Активное напряжение в эктоплазме пропорционально концентрации образовавшихся комплексов актина и миозина. Скорость поглощения ионов кальция в везикулы – кальциевые хранилища, и релаксация активного напряжения описываются кинетикой первого порядка. Клетка жестко прикреплена к подложке и не испытывает продольных деформаций. Заметим, что для плазмодия с развитой стохастической сетью тяжей физическая модель ”пористой губки” может потребовать уточнения, в частности, система в этом случае станет неизотропной.

Приводящая к возникновению механико-химических АВ структур взаимосвязь активного напряжения, потока эндоплазмы и концентрации ионов кальция может быть описана следующей системой нелинейных дифференциальных уравнений в частных производных:

$$U_t = \nabla_x(\nu \nabla_x(\alpha U + \beta U_t + \gamma P)), \quad (1)$$

$$P_t = k_1 f_1(C)(P_m - P) - k_2 P, \quad (2)$$

$$C_t = k_3 f_2(U)(C_m - C) - k_4 C, \quad x \in \Omega, \quad y \geq 0, \quad (3)$$

$$\nabla_n(\alpha U + \beta U_t + \gamma P) = 0, \quad x \in \partial\Omega, \quad t \geq 0. \quad (4)$$

Здесь $U(t, x)$ – деформация поверхности клетки, $P(t, x)$ – активная компонента внутриклеточного давления, генерируемого актомиозиновым сократительным аппаратом, $C(t, x)$ – концентрация ионов кальция в сократительном аппарате. Ω – интервал $(0, L)$ или ограниченная двумерная область, имеющая достаточно гладкую границу $\partial\Omega$ с единичным нормальным вектором \vec{n} . Константы P_m и C_m – максимально возможные значения P и C . Параметры α, β, γ характеризуют вязкоупругие свойства эктоплазмы и эндоплазмы. В одномерном случае для цилиндрического тяжа плазмодия $\alpha = EhR_0/16$, $\beta = \eta hR_0/16$, $\gamma = R_0^3/16$ и $\nu = 1/\mu$. Здесь E – модуль Юнга, η – коэффициент вязкости, h – толщина эктоплазматической стенки тяжа, R_0 – радиус тяжа при отсутствии напряжения, μ – вязкость эндоплазмы. В двумерном случае $\alpha = H_0^2/E$, $\beta = H_0^2\nu$, $\gamma = H_0^3$, $\nu = m/\mu$, где H_0 – толщина клетки при отсутствии напряжения, m – коэффициент пористости, равный отношению объема пор к общему объему тела ($0 \leq m \leq 1$). Коэффициенты k_1, k_2, k_3, k_4 описывают механизмы действия сократительного аппарата и кальций аккумулирующих систем и имеют смысл эффективных констант скоростей соответствующих кинетических процессов: k_1 и k_2 – формирования и диссоциации актомиозиновых комплексов, а k_3 и k_4 – соответственно освобождения ионов кальция из хранилищ и их обратной закачки. Кальциевый контроль сократительного аппарата в рамках модели объясняется тем, что скорость образования актомиозиновых комплексов зависит от концентрации ионов кальция $C(t, x)$. В ряде экспериментальных работ [5] было показано, что кальциевая активация носит пороговый характер и поэтому в уравнение (2) введена безразмерная функция активации f_1 ($0 \leq f_1 \leq 1$), которую мы аппроксимировали полиномом третьей степени или \arctan . Безразмерная функция f_2 задает зависимость скорости выхода ионов кальция из хранилищ в межфибрилярное пространство от деформации клетки. В первом приближении мы полагали, что эта скорость увеличивается прямо пропорционально локальной деформации эктоплазмы $U(t, x)$. Граничное условие (4) означает непротекание эндоплазмы через клеточную поверхность. Для выяснения роли только гидродинамического взаимодействия между различными частями

плазмодия через текущую эндоплазму опущены члены, описывающие диффузию и снос химического регулятора.

Типичные значения всех параметров модели и общие условия возбуждения АВ приведены в [6, 7], а математические проблемы, связанные с доказательством существования и единственности решения системы, обобщающей указанные уравнения, в которых коэффициенты могут быть функциями координат и времени, рассмотрены в [8, 9]. Математический анализ и компьютерные эксперименты показали, что решения даже упрощенной модели удовлетворительно согласуются со многими имеющимися экспериментальными данными. Для одномерной модели с постоянными коэффициентами были получены решения в виде квазистоячей косинусоидальной волны: наблюдалось образование пучностей на концах тяжа и явление модуляции амплитуды. Амплитуда колебаний не зависела от амплитуды начальных данных и малые возмущения либо развивались до определенных пределов (при выполнении условий самовозбуждения), либо затухали. При этом было неважно, какая именно из искомых функций получала начальные возбуждения, а какая имела начальное распределение в виде стационарного пространственно-однородного решения задачи (1) – (4). Результаты дисперсионного анализа по линейному приближению для исходной непрерывной задачи (1) – (4) вполне соответствовали результатам расчетов. В частности, основной период колебаний сократительной активности, полученный при численных решениях, был близок к аналитически вычисленному периоду первой гармоники и соответствовал экспериментальным данным. Одно из решений одномерной модели показано на рис.1.

Расчеты на ЭВМ, проведенные для пленки круглой формы, характерной для плазмодия на стадии распластывания, дали следующие результаты. Когда параметры системы были таковы, что вычисленные по линейному приближению периоды колебаний нарастающих гармоник были очень близки, форма решений в течение довольно продолжительного промежутка времени определялась в первую очередь формой начальных условий. В установившемся режиме значения искомых функций системы (1) – (4), вычисленные в фиксированной точке пространства, менялись почти по гармоническому закону. Если параметры в уравнениях (1) – (4) выбрать так, чтобы система находилась вблизи границы области устойчивости, то возникающие автоколебания с малыми амплитудами происходят практически в полном соответствии с начальными данными, а краевых эффектов не возникает. При возбуждении большего числа гармоник форма решений усложняется, амплитуда колебаний растет, а на границе области появляются квазистоячие АВ. Для поведения системы (1) – (4) во времени характерны биения, происходящие в любой точке пространства. Чем больше гармоник возбуждается, тем сильнее становятся эти эффекты. В случае когда периоды колебаний нарастающих гармоник значительно различаются, на поверхности клетки возникают сложные АВ структуры, проявляющиеся, в частности, в виде вращающихся волн (рис.2), которые иногда наблюдаются в реальном плазмодии.

2.2 АВ в неоднородном тяже плазмодия

Приведенные результаты численных решений модели (1) – (4) с пространственно однородными параметрами хорошо согласуются с экспериментальными данными и свидетельствуют в пользу адекватности описания АВП в плазмодии с помощью данной модели. Эта модель также удовлетворительно описывает существующие данные о неавтономном поведении плазмодия с неоднородным пространственным распределением параметров. В мигрирующем плазмодии всегда существуют неоднородные пространственные распределения различных внутриклеточных химических компонентов, механических и

электрических характеристик, и интересно выяснить как это влияет на свойства АВ. Такая ситуация вообще характерна для таксиса всех амебоидных клеток по градиентам внешних факторов. Решение этой проблемы интересно и с методической точки зрения, и как первый шаг в построении и исследовании модели таксиса плазмодия. Известно, что обработка всего плазмодия дыхательными ингибиторами вызывает обратимое прекращение автоколебаний сократительной активности [10]. Однако при локальной обработке тяжа (до 90% его длины) этими ингибиторами цикл сокращения-расслабления сохраняется даже в обработанной части тяжа [10, 11]. Поскольку экспериментально было показано, что механические параметры тяжей в этом случае существенно не изменяются [12], мы предположили, что дыхательные яды влияют на кальциевый гомеостаз, уменьшая константы скоростей кальциевой кинетики. В рамках нашей модели скорости входа и выхода ионов кальция соответственно определяются кинетическими параметрами k_3 и k_4 . Следовательно, при локальном приложении дыхательных ингибиторов величины этих параметров будут иметь неоднородное пространственное распределение. Для простоты расчетов пусть их значения изменяются в отношении продольной оси как функция \arctan , а точка, в которой ее производная максимальна, определяет границу между обработанной и необработанной частями тяжа. В нашей ранней работе в качестве первого приближения мы предполагали, что дыхательные ингибиторы уменьшают величины констант k_3 и k_4 до нуля, т.е. концентрация ионов кальция становилась постоянной и обработанная часть тяжа становилась полностью пассивной. Здесь мы уменьшим значения k_3 и k_4 до таких величин, чтобы условия колебательной неустойчивости согласно критерию Ляпунова не выполнялись для обработанной части тяжа, но в то же время она еще могла активно реагировать на растяжения эктоплазмы, происходящие вследствие притока эндоплазмы из необработанной части. Чтобы стационарное решение модели не изменялось, отношение k_3/k_4 должно оставаться постоянным вдоль тяжа, и поэтому производились пропорциональные изменения параметров k_3 и k_4 .

На рис.3 приведен результат моделирования кинетики активного компонента внутриклеточного давления (пропорционального окружному активному напряжению эктоплазмы) в обработанной части модельного тяжа при его локальной, пошаговой "обработке". Показано давление, усредненное по всей обработанной части тяжа. В моменты времени, отмеченные стрелками, кинетические параметры k_3 и k_4 последовательно уменьшались в одно и то же число раз для 50%, 70%, 90% и 100% длины тяжа. Для сравнения этого решения с экспериментом на рис.4 приведена запись продольной силы, развиваемой обработанной дыхательными ингибиторами частью реального тяжа. Видно, что существует качественное согласие теории с экспериментом, поскольку радиальные и продольные локальные сокращения эктоплазмы тяжа качественно ведут себя одинаково [13, 14].

С помощью моделирования можно оценить изменения сократительной активности и скорости потока эндоплазмы в любой части тяжа. рис.5 представляет результаты численного решения модели для активной компоненты внутриклеточного давления у обоих торцов тяжа. На рис.5а показаны автоколебания, происходящие в норме. Концы модельного тяжа сокращаются в противофазе и наблюдается стоячая волна первой моды. "Обработка" тяжа до 50% его длины (рис.5б) слабо влияет на амплитуду колебаний в необработанном конце тяжа (тонкая линия), в то время как в "обработанном" конце сократительная активность заметно уменьшается (толстая линия). Обработка более 70% длины тяжа значительно уменьшает амплитуду колебаний как в "обработанной", так и в "необработанной" части (рис.5 в,г), причем уменьшение амплитуды всегда больше в "обработанной" части. Как видно, в этих случаях происходит также увеличение периода автоколебаний, сначала в "обработанной" части, а со временем наступает синхронизация колебаний в обоих торцах тяжа. Как и в реальном тяже автоколебания прекращаются

при полной "обработке" модельного тяжа (рис.5д). Необходимым условием генерации колебаний в "обработанной" части тяжа является поток эндоплазмы между обработанной и интактной частями [11]. На рис.6 показана скорость челночного потока эндоплазмы между обработанной и интактной частями тяжа, измеренная с помощью доплеровского лазерного анемометра [15].

Последовательные распределения средней скорости потока эндоплазмы вдоль модельного тяжа, вычисленные в фиксированные моменты времени после его 80% "обработки" дыхательными ингибиторами, показаны на рис.7. Видно, что здесь также существует заметный обмен эндоплазмой между "обработанной" и интактной частями тяжа. Однако форма стоячей волны в таком неоднородном по параметрам тяже существенно отличается от синусоидальной формы, характерной для интактного тяжа.

Представленные результаты показывают, что математическая модель с неоднородным пространственным распределением параметров удовлетворительно описывает данные о действии дыхательных ингибиторов. Продемонстрированы условия, достаточные для захвата активного цикла сокращение-расслабление частью плазмодиального тяжа, которая лишена эндогенного ритма. В частности, показано, что, как и в эксперименте с реальным тяжем, режим колебаний сократительного аппарата в "обработанной" части может сохраняться только при наличии челночного потока эндоплазмы между "обработанной" и целой частями тяжа. Напомним, что члены, описывающие диффузию и дрейф ионов кальция, были опущены в системе уравнений (1) – (4), и поэтому можно заключить, что только гидродинамического влияния челночного потока эндоплазмы может быть достаточно для АВ самоорганизации сократительной активности в плазмодии. Полученные данные позволяют интерпретировать контрактильное поведение таких тяжей с точки зрения водителя ритма – активной нагрузки. Следует подчеркнуть, что водитель ритма, находящийся в 10% объема тяжа, вполне достаточен для сохранения колебаний во всей системе.

Эти данные показывают, что основная гипотеза модели физически правдоподобна и механические напряжения в самом деле могут быть вовлечены в цепи обратных связей, ответственных за автоколебательную нестабильность плазмодия. Несомненно, модель не окончательная и будет улучшаться по мере накопления новых экспериментальных результатов. В частности, важная проблема, которая возникает при исследовании миграции амебоидных клеток, это их полярная форма. Было показано, что обычно вся широкая сеть тяжей при миграции плазмодия сокращается синфазно, выдавливая эндоплазму в направлении более узкой фронтальной пленки, т.е. возбужденная мода АВ сильно несимметрична и амплитуда колебаний в фронтальной зоне всегда больше, чем в области тяжей. Вероятно, это можно также объяснить нашей моделью с пространственно неоднородным распределением вязкоупругих параметров вдоль направления миграции. Поэтому следующей актуальной проблемой, которую необходимо рассмотреть, является формулировка и решение модели с подвижными границами, описывающей мигрирующую клетку.

3 АВТОВОЛНЫ В ЯЙЦЕКЛЕТКАХ

3.1 Обоснование моделей ИЗФ- Ca^{2+} -волн на поверхности яйцеклеток

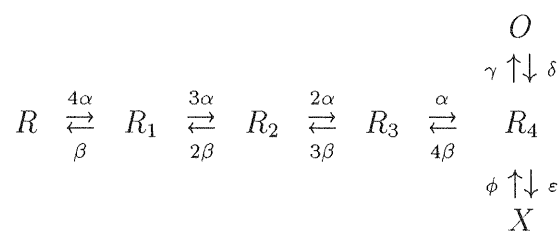
Ca^{2+} участвует во многих процессах развития: он запускает активацию яйцеклетки при оплодотворении, контролирует разные фазы клеточного деления, участвует в дифференциации клеток [16]. Клеточный цикл в определенных фазах сопровождается изменением

концентрации Ca^{2+} , в том числе и в период, непосредственно предшествующий цитокинезу [17], когда по поверхности эмбриональной клетки пробегают контракционные АВ [18, 19]. Как было обнаружено в нашем коллективе, волны сокращения, аналогичные по параметрам митотическим волнам, можно вызывать экспериментально внутриклеточными инъекциями инозитол-1,4,5-трисфосфата (ИЗФ; 1 мМ, 10 нл) в яйцеклетки лягушки *Rana temporaria* в период между делениями [20]. Характерной особенностью обнаруженных АВ является то, что они не инициируются прямыми внутриклеточными инъекциями Ca^{2+} (Божкова, Воронов, неопуб.), что не позволяет их описывать существующими в настоящее время моделями.

Моделирование кальциевых осцилляций и АВ в эмбриональных клетках ведется уже достаточно давно. Подробно исследован механизм Ca^{2+} – индуцированных Ca^{2+} волн (CICR волн). Модели CICR позволили получить в численном эксперименте большинство наблюдаемых режимов работы кальциевой сигнальной системы – от продуцирования локальных ”вспышек” до генерации волн [18]. Однако эти модели не соответствуют многим экспериментальным данным. В большинстве случаев Ca^{2+} вовлечен в различные метаболические процессы, которые нельзя не учитывать при описании кальциевой динамики. Одним из наиболее распространенных регуляторов кальциевых каналов является ИЗФ, колебания концентрации которого часто сопровождают кальциевые сигналы [17, 21]. Такие процессы также стали предметом моделирования, но имеющиеся модели [22, 23], по-существу, сводятся к моделям типа CICR, поскольку предполагают, что к моменту зарождения волны концентрация ИЗФ уже выросла во всей клетке до уровня, который обеспечивает последующее распространение волны кальциевым механизмом. Наша модель предполагает, что Ca^{2+} волна является видимой частью ИЗФ- Ca^{2+} волны, где выброс кальция вызывается повышением концентрации ИЗФ, а Ca^{2+} , в свою очередь, влияет на работу инозитольной системы. Характерной особенностью экспериментально наблюдаемой ИЗФ-активации является выраженная пороговая реакция, наблюдаемая как на уровне работы отдельных каналов, так и инициации волны в целом [24]. Оба этих процесса и были нами промоделированы.

3.2 Модель кооперативной активации ИЗФ- Ca^{2+} -канала

При построении данной модели предполагалось, что (см. [24]) для активации и для перехода в латентное состояние рецептор должен быть связан с четырьмя молекулами ИЗФ, причем связывание происходит последовательно, с линейно убывающей вероятностью (уменьшается количество ”посадочных мест”); подготовленный таким образом канал может перейти либо в латентное, либо в активное состояние, причем зависимость вероятности последнего процесса от концентрации ионов кальция имеет колоколообразный вид [25]. Тогда схема переходов канала в различные состояния будет выглядеть следующим образом:



Здесь R – неактивный рецептор, индекс при нем – количество присоединенных молекул ИЗФ, O – открытый рецептор, X – латентный. На основании этой схемы получена система дифференциальных уравнений с семью переменными (систему можно редуцировать

на одну переменную, т.к. полное число рецепторов неизменно):

$$\begin{aligned}
\frac{dR}{dt} &= -4\alpha IR + \beta R_1, \\
\frac{dR_1}{dt} &= 4\alpha IR - (3\alpha I + \beta)R_1 + 2\beta R_2, \\
\frac{dR_2}{dt} &= 3\alpha IR_1 - (2\alpha I + 2\beta)R_2 + 3\beta R_3, \\
\frac{dR_3}{dt} &= 2\alpha IR_2 - (\alpha I + 3\beta)R_3 + 4\beta R_4, \\
\frac{dR_4}{dt} &= (\alpha I - \gamma(C) - \varepsilon)R_3 - 4\beta R_4 + \delta O + \phi X, \\
\frac{dO}{dt} &= \gamma(C)R_3 - \delta O, \\
\frac{dX}{dt} &= -\frac{dR + dR_1 + dR_2 + dR_3 + dR_4 + dO}{dt} = \varepsilon R_3 - \phi X.
\end{aligned} \tag{5}$$

Здесь параметры I и C обозначают концентрацию ИЗФ и Ca^{2+} , соответственно. В получившейся системе требовалось подобрать пять параметров и функцию влияния концентрации кальция на открытие каналов. Параметры β , δ и ϕ предполагались малыми из-за различия временного масштаба процессов возбуждения и восстановления и были определены из времени восстановления системы (порядка 10 мин.). Параметр α , определяющий начальную задержку системы, подбирался для совпадения с экспериментально наблюдаемой величиной (около 0.02 сек). ε определяет амплитуду отклика при фиксированном уровне кальция и ИЗФ. Функция $\gamma(C)$ известна в девяти точках по экспериментальным данным и была аппроксимирована гладкой асимметричной колоколообразной функцией вида $X^\alpha \cdot e^{-\beta X^2}$ методом градиентного спуска. В результате численное моделирование проводилось со следующими значениями параметров:

$$\begin{aligned}
\alpha &= 2.5e6 \cdot s^{-1} M^{-1} \\
\beta &= 0.147 \cdot s^{-1} \\
\gamma(C) &= (1.94e7 \cdot C^{0.7} \exp(-3.1e10 \cdot C^2) + 555) \cdot s^{-1} \\
\delta &= 20 \cdot s^{-1} \\
\varepsilon &= 1.5e5 \cdot s^{-1} \\
\phi &= 0.18 \cdot s^{-1}.
\end{aligned}$$

Результаты моделирования представлены на рис.8. Как видно из сопоставления экспериментальных данных и результатов численного моделирования, данная модель хорошо описывает особенности кинетики Ca^{2+} -канала, что подтверждает исходные гипотезы.

3.3 Модель ИЗФ- Ca^{2+} -волны

Биологические предпосылки. Модель кооперативной активации Ca^{2+} канала, показавшая, в частности, что связывание ИЗФ с рецептором кальциевого канала вызывает выброс Ca^{2+} из везикул даже при малых исходных концентрациях Ca^{2+} вблизи канала, заставляет признать неадекватным предполагаемый в литературе механизм распространения Ca^{2+} -волны. Этот механизм основан на гипотезе о предваряющей Ca^{2+} -волну диффузионном распространении ИЗФ [22, 23]. Поэтому мы предлагаем как единственно возможную модель Ca^{2+} -волны, сопряженной с ИЗФ-волной. В этой модели (рис.9) мы считаем,

как это экспериментально показано для большинства клеток млекопитающих [26], что активация фосфоинозитидного цикла в клеточных мембранах начинается с гидролиза фосфолипида фосфатидилинозитол 4,5-дифосфата (PIP2). Одним из конечных продуктов гидролиза является ИЗФ. Действие ИЗФ как вторичного посредника кончается при его последующем дефосфорилировании в инозитол-ди- и монофосфат и, в конечном счете, в свободный мио-инозитол (мио-И). После этого он снова вовлекается в фосфоинозитидный цикл как интермедиат для регенерации PIP2. Мы предполагаем, что ИЗФ может оказывать стимулирующее действие на PIP2-гидролиз и, соответственно, на образование ИЗФ. Модель предполагает, что ИЗФ-цикл является главным участником волнового процесса, а Ca^{2+} -волна сопровождает ИЗФ-волну. Кроме того, мы рассматриваем вариант отрицательного влияния Ca^{2+} на ИЗФ-цикл [27] (связывание свободного ИЗФ кальцием с образованием комплекса Х-ИЗФ, приводящее к укорочению заднего фронта волны).

Математическое моделирование волны. Обозначив концентрацию ИЗФ как I , мио-И как M , а PIP2 как P , возьмем в качестве базовой "точечной" модели инозитольного цикла следующую систему:

$$\begin{aligned}\frac{\partial I}{\partial t} &= C_{PI}P - C_{IM}I, \\ \frac{\partial M}{\partial t} &= C_{IM}I - C_{MP}M, \quad (C_{IM} \gg C_{MP} \gg C_{PI}), \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= C_{MP}M - C_{PI}P.\end{aligned}$$

Такая система имеет единственную особую точку типа устойчивый узел при

$$\begin{aligned}I_S &= S \frac{C_{MP}C_{PI}}{C_{IM}C_{MP} + C_{MP}C_{PI} + C_{PI}C_{IM}}, \\ M_S &= S \frac{C_{PI}C_{IM}}{C_{IM}C_{MP} + C_{MP}C_{PI} + P_{PI}C_{IM}}, \\ P_S &= S \frac{C_{IM}C_{MP}}{C_{IM}C_{MP} + C_{MP}C_{PI} + C_{PI}C_{IM}},\end{aligned}$$

где S – общее количество интермедиатов. Пусть с превышением ИЗФ пороговой концентрации I_0 включается механизм автокатализа. Тогда при учете диффузии мы получим следующую систему:

$$\begin{aligned}\frac{\partial I}{\partial t} &= D_I \frac{\partial^2 I}{\partial x^2} + [C_{II}\Theta(I - I_0)I + C_{PI}]P - C_{IM}I, \\ \frac{\partial M}{\partial t} &= D_M \frac{\partial^2 M}{\partial x^2} + C_{IM}I - C_{MP}M, \\ \frac{\partial P}{\partial t} &= C_{MP}M - [C_{II}\Theta(I - I_0)I + C_{PI}]P.\end{aligned}\tag{6}$$

Здесь Θ – функция Хевисайда. При $I_0 > I_S$ и таком значении C_{II} , что при $I > I_0$ нет устойчивых особых точек, получаем систему, в которой может распространяться АВ типа "бегущий импульс". Мы приняли следующие значения для коэффициентов: $D_I = D_M = 300$ мкм²/сек, $D_C = 20$ мкм²/сек, $C_{II} = 0.06$, $C_{PI} = 0.01$, $C_{IM} = 3$, $C_{MP} = 0.1$, $S = 1$, $I_0 = 0.02$.

Фазовая плоскость точечной трехкомпонентной системы показана на рис.10. Введем далее компоненты кальциевого цикла – концентрацию кальция C и концентрацию Х-ИЗФ

Z. Полная система уравнений для иллюстрируемой рис.9 модели имеет вид:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial I}{\partial t} &= D_I \frac{\partial^2 I}{\partial x^2} + [C_{II} \Theta(I - I_0)I + C_{PI}]P - C_{IM}I + C_{IZ}IC, \\
\frac{\partial M}{\partial t} &= D_M \frac{\partial^2 M}{\partial x^2} + C_{IM}I - C_{MP}M + C_{ZM}Z, \\
\frac{\partial P}{\partial t} &= C_{MP}M - [C_{II} \Theta(I - I_0)I + C_{PI}]P, \\
\frac{\partial C}{\partial t} &= D_C \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + C_{IC}I - C_{CC}C, \\
\frac{\partial Z}{\partial t} &= C_{IZ}IC - C_{ZM}Z.
\end{aligned} \tag{7}$$

Для системы уравнений (7) без учета граничных условий (т.е. вдали от границ) при $C_{CC} = 0.3$, $C_{IC} = 2$, $C_{CZ} = 0.05$, $C_{ZM} = 0.01$ был проведен численный эксперимент. Графики пространственного распределения концентраций свободного и связанного ИЗФ, мио-И, РІР2 и Ca^{2+} для моментов времени $t = 8$ и $t = 30$ сек приведены на рис.11. Как видно из рисунка, решением этой системы является "бегущий импульс", скорость которого около 30 мкм/сек. Время восстановления локальной концентрации Ca^{2+} определяется скоростью его ресеквестрации C_{CC} , а время восстановления ИЗФ – параметрами C_{ZM} и C_{MP} фосфоинозитидного цикла. На форму заднего фронта ИЗФ оказывает влияние связывание ИЗФ кальцием (C_{CZ}). Несомненно, эта модель только еще начинает формироваться и будет улучшаться по мере получения новых экспериментальных данных. Представляется важным найти объяснение существованию трех классов кальциевых волн с разными скоростями распространения (сверхбыстрых, быстрых и медленных) [18].

Обсуждение результатов моделирования. Данная математическая модель является "нуль-приближением". Для дальнейших приближений необходимо рассматривать распространение волны на сфере, с соответствующими граничными условиями. Тем не менее, даже "нуль-приближение" демонстрирует адекватный экспериментальным данным результат. Математические модели, описанные в этой части работы, позволили проанализировать еще один механизм генерации Ca^{2+} -волн и показать, что он хорошо описывает динамические особенности экспериментально наблюдаемых волновых процессов в яйцеклетках. В своей модели мы предполагаем на основе данных о роли Ca^{2+} в сокращении актинового цитоскелета, что пропагатором контракционной волны является Ca^{2+} . Мы пока не учитываем в модели тот факт, что различные актин-связывающие белки (гельзолин, профилин и др.) не только участвуют в сокращении и сборке-разборке цитоскелета, но и влияют на мембранные сигнальные механизмы (на гидролиз РІР2 и, в частности, образование ИЗФ) [28], обеспечивая таким образом сопряжение между механическими и химическими процессами. Включение в ИЗФ- Ca^{2+} -модели цепей обратных связей между деформациями цитоскелета (изменением его молекулярной структуры) и активностью ИЗФ-сигнальной системы (вызванной изменением количества свободных актин-связывающих белков) должно выявить сходство этих моделей с моделями, предложенными для описания АВП в плазмодии. Последние, со своей стороны, могут быть дополнены элементами эмбриональных моделей. Заметим, что ИЗФ-сигнальная система обнаружена и в плазмодии (Бейлина С.И., личное сообщение). В конечном счете, мы надеемся ответить на вопрос, вызываются ли различные АВП в живых системах единым (механо-химическим или каким-либо другим) механизмом, или эти механизмы функционально обусловлены и поэтому достаточно разнообразны.

Авторы глубоко благодарны С.И. Бейлиной за участие в обсуждении физико-химических предпосылок математических моделей и А.В. Чернавскому и И.А. Лубашевского за помощь в оформлении текста.

Список литературы

- [1] Романовский Ю.М., Теплов В.А. (1995) Физические основы клеточного движения. Механизмы самоорганизации амебоидной подвижности. УФН, Т. 165 (5), 555–578.
- [2] Теплов В.А., Бейлина С.И., Романовский Ю.М. (1998) Автоволновая динамика цитоскелета плазмодия миксомицета *Physarum polycephalum*. Физиология растений, Т. 45 (2), 168–184.
- [3] Teplov V.A., Romanovsky Yu.M., Pavlov D.A., Alt W. (1997) Autooscillatory processes and feedback mechanisms in *Physarum* plasmodium motility. In: "Dynamics of Cell and Tissue Motion" (eds. W. Alt, A. Deutsch, G.A. Dunn), Birkhaeuser, Basel-Boston-Berlin, pp.83–92.
- [4] Teplov V.A. (1988) Autooscillations in *Physarum* plasmodium. Correlation between force generation and visco-elasticity during rhythmical contractions of protoplasmic strand. Protoplasma (Suppl.1), Cell Dynamics, V. 1, pp. 81–88.
- [5] Yoshimoto Y, Kamiya N (1984) ATP- and calcium controlled contraction in a saponin model of *Physarum polycephalum*. Cell Struct. Funct., V. 9, 135–141.
- [6] Teplov V.A., Romanovsky Yu.M., Latushkin O.A. (1991) A continuum model of contraction waves and protoplasm streaming in strands of *Physarum* plasmodium. BioSystems, V. 24, 269–289.
- [7] Романовский Ю.М. (1993) Математические модели внутриклеточной подвижности. Математическое моделирование. N. 8, 3–37.
- [8] Павлов Д.А., Потапов М.М. (1994) Распределенная модель внутриклеточной подвижности и ее проекционно-разностная аппроксимация. Вестн. Моск. Ун-та., Сер.15, Вычисл. Матем. и Киберн., 1, 10–16.
- [9] Павлов Д.А., Потапов М.М. (1995) О равномерной ограниченности решения распределенной модели внутриклеточной подвижности. Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 15, Вычисл. Матем. и Киберн., 2, 62–64.
- [10] Mazur A., Teplov V.A. (1991) Surface oscillations in *Physarum polycephalum* – computer simulation and comparison with the local influence of the respiratory inhibitors, Acta Protozoologica, Vol. 30, 87–92.
- [11] Baranowski Z., Teplov V.A. (1992) Endoplasmic streaming mediates integrity of autooscillations in *Physarum polycephalum*. Cell Biol. Int. Reports, V. 16, 1091–1096.
- [12] Naib-Majani W., Teplov V.A., Baranowski Z. (1988) Morphology and viscoelastic properties of *Physarum* strands during steady-state of their contractile behavior. Protoplasma (Suppl. 1), Cell Dynamics, V. 1, 57–63.
- [13] Mazur A., Teplov V.A. (1988) Surface oscillations in *Physarum polycephalum* – computer simulation and comparison with the local influence of the respiratory inhibitors. Acta Protozoologica, V. 30, 87–92.
- [14] Hulsman N., Wohlfarth-Bottermann K.E. (1988) "Spatio-temporal analysis of contraction dependent surface movements in *Physarum polycephalum*", Cytobiologie, V. 17, 23–41.

- [15] Teplov V.A., Khors E.A., Pavlov D.A., Priezzhev A.V., Romanovsky Yu.M. (1997) Complex regimes of the contractile activity in *Physarum plasmodium*, laser diagnostics of intracellular flows and mathematical models. In: "Nonlinear Dynamics and Structures in Biology and Medicine: Optical and Laser Technologies", (Ed. Tuchin V.V.), Proc. SPIE, V. 3053, pp. 2–8.
- [16] Berridge M., Bootman M. and Lipp P. (1998) Calcium – a life and death signal. *Nature*, V. 395, 645–648.
- [17] Ciapa B., Pesando D., Wilding M. and Whitaker M. (1994) Cell-cycle calcium transients driven by cyclic changes in inositol triphosphate levels. *Nature*, V. 368, 875–878.
- [18] Jaffe L. Classes and mechanisms of calcium waves. 1993. *Cell calcium*, V. 14, 736–745.
- [19] Perez-Mongiovi D., Chang P. and Houliston E. (1998) A propagated wave of MPF activation accompanies surface contraction waves at first mitosis in *Xenopus*. *J. Cell Sci.*, V. 11, 385–393.
- [20] Божкова В. П., Воронов Д. А. и Романовский Ю. М. (1993) Возникновение волн сокращения на поверхности оплодотворенных яйцеклеток лягушек под действием инозитолтрифосфата. *Биофизика*, Т. 38, вып. 2, 267–278.
- [21] Stith B., Goalstone M., Silva S. and Jaynes Ch. (1993) Inositol 1,4,5-trisphosphate mass changes from fertilization through first cleavage in *X. laevis*. *Mol. Biol. Cell*, V. 4, 435–443.
- [22] Atri A., Amundson J., Clapham D. and Sneyd J. (1993) A single pool model for intracellular calcium oscillations and waves in the *Xenopus* oocyte. *Biophys. J.*, V. 65, 1727–1739.
- [23] Kupferman R., Mitra P., Hohenberg P. and Wang S. (1997) Analytical calculation of intracellular wave characteristics. *Biophys. J.*, V. 72, 2430–2444.
- [24] Dufour J.-F. Arias I. and Turner T. (1997) Inositol 1,4,5-trisphosphate and calcium regulate the calcium channel function of the hepatic inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *J. Biol. Chem.*, V. 272, 2675–2681.
- [25] Bezprozvanny I., Watras J. and Ehrlich B. (1991) Bell-shaped calcium-response curves of Ins(1,4,5)- and calcium-gated channels from endoplasmic reticulum of cerebellum. *Nature*, V. 351, 751–754.
- [26] Berridge M. and Dupont G. (1994) Spatial and temporal signalling by calcium. *Curr. Opinion Cell Biol.*, V. 6, 267–274.
- [27] Pietri F., Hilly M. and Mauger J.-P. (1990) Calcium mediates the interconversion between two states of the liver inositol 1,4,5-trisphosphate reseptor. *J. Biol. Chem.*, V. 265, 17478–17485.
- [28] Sun H., Lin K. and Yin H. (1997) Gelsolin modulates phospholipase C activity in vivo through phospholipid binding. *J. Cell Biol.*, V. 138, 811–820.

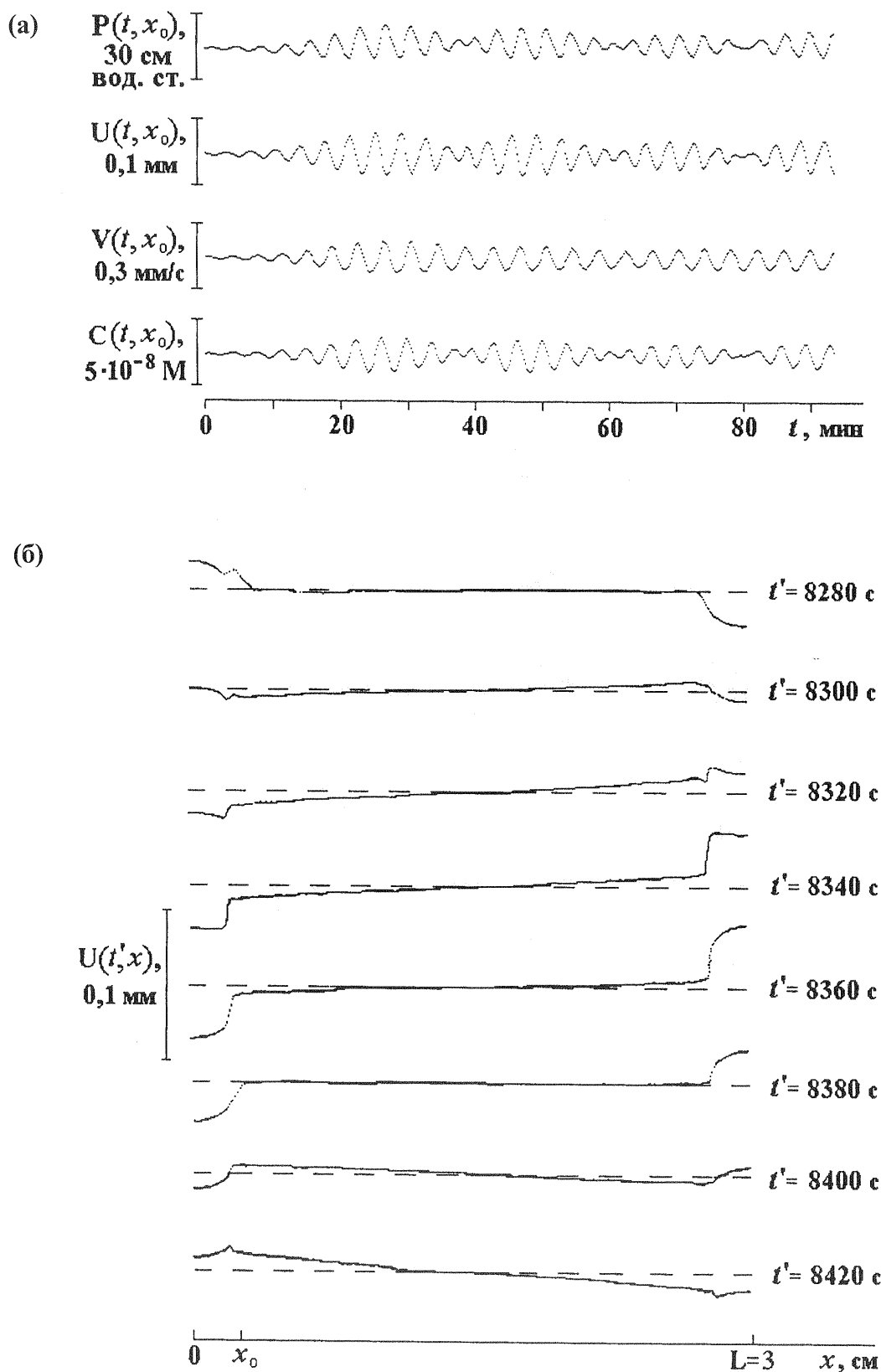


Рис. 1. Численные решения одномерной модели, описывающей автоволновые процессы в изолированном тяже. (а) – осциллограммы синхронных колебаний внутриклеточного давления $P(t, x_0)$, деформации стенки $U(t, x_0)$, скорости потока эндоплазмы $V(t, x_0)$ и концентрации ионов кальция $C(t, x_0)$ в сечении тяжа с координатой x_0 . (б) – распределения радиальной деформации вдоль тяжа ($0 \leq x \leq L = 3 \text{ см}$) в фиксированные моменты времени t' .

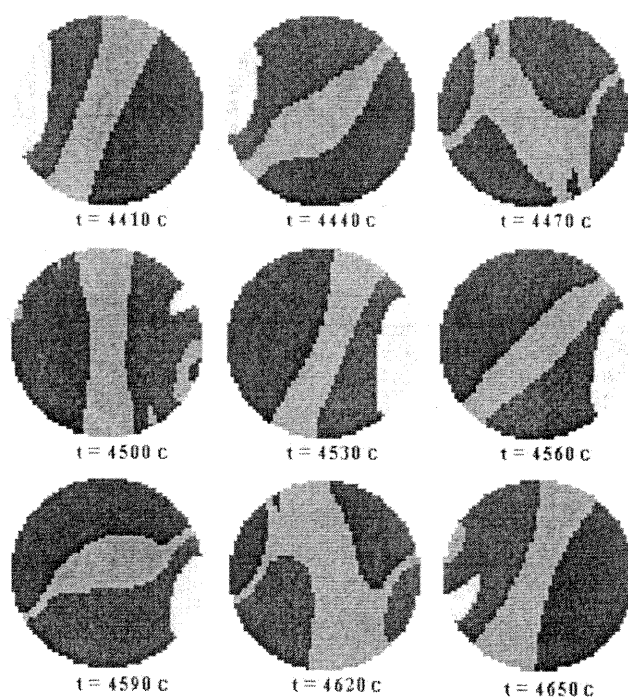


Рис. 2. Решение двумерной модели в виде вращающейся волны. Более темным цветом показаны участки клетки с большей толщиной.

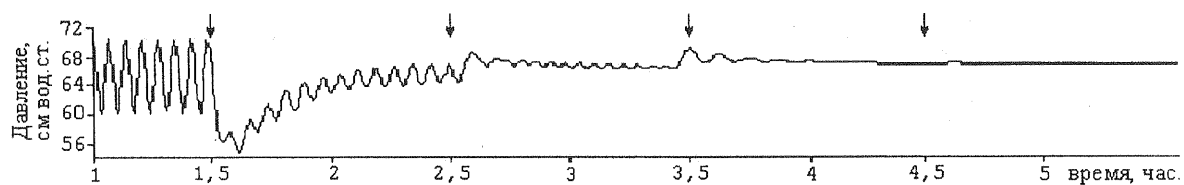


Рис. 3. Компьютерное моделирование постепенной локальной обработки тяжа раствором дыхательных ингибиторов. В моменты времени отмеченные стрелками, кинетические параметры k_3 и k_4 последовательно уменьшались в одно и тоже число раз для 50%, 70%, 90% и 100% длины тяжа.

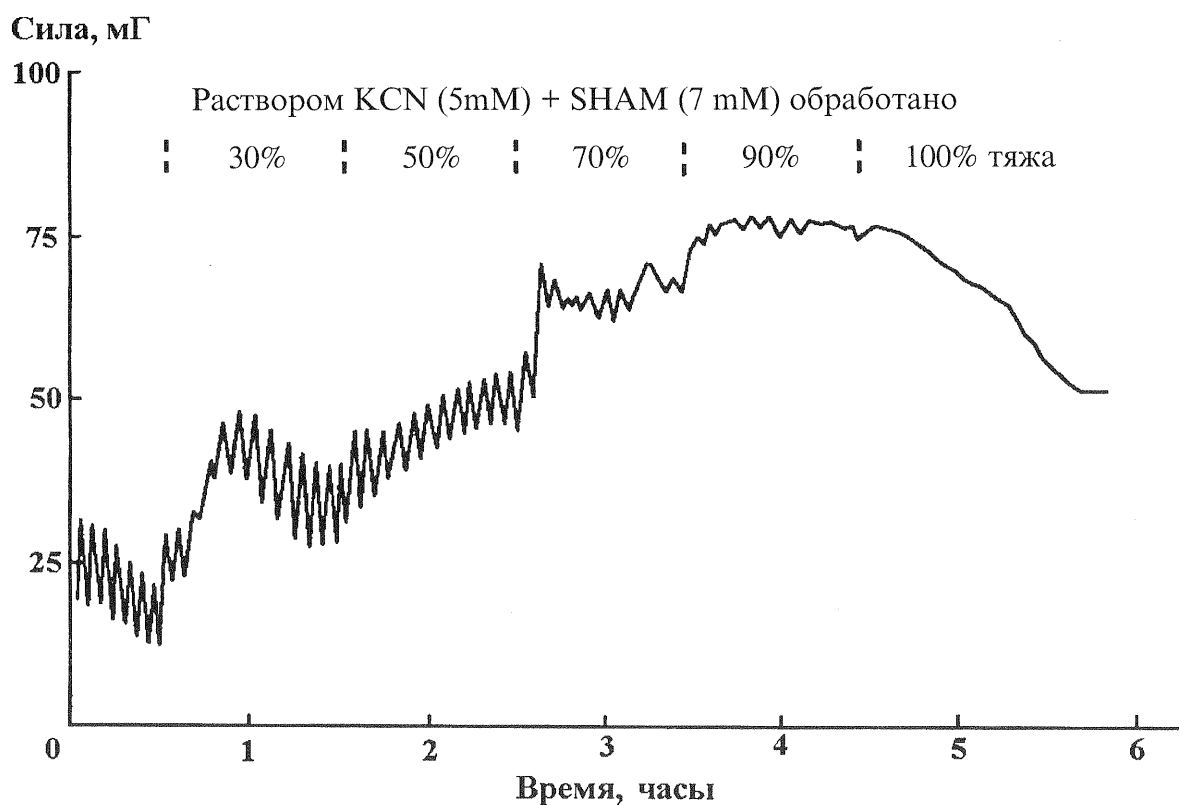


Рис. 4. Постепенная обработка реального тяжа раствором дыхательных ингибиторов. Длина и диаметр тяжа 2 см и 0.4 мм, соответственно. Подробности в тексте.

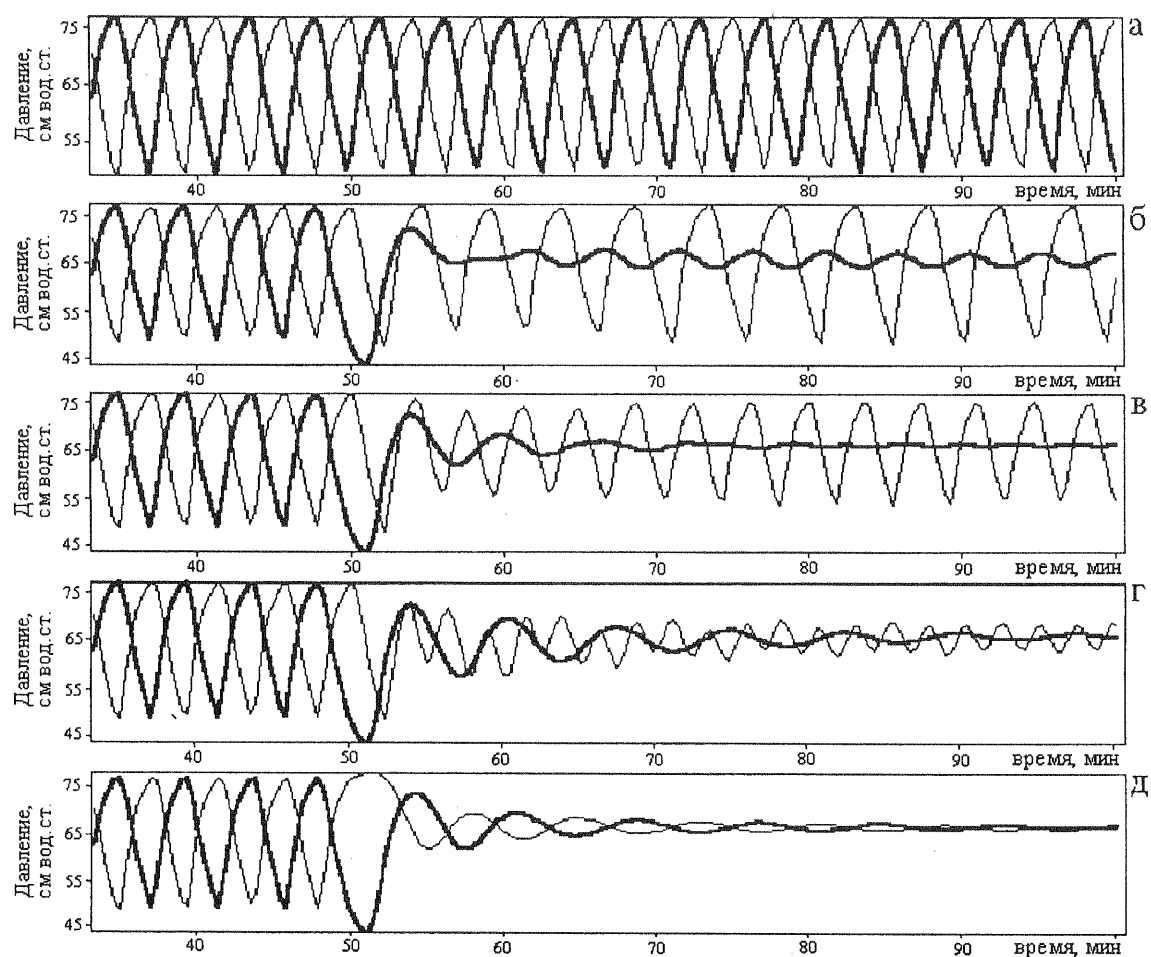


Рис. 5. Автоколебания внутриклеточного давления в двух торцевых точках модельного тяжа длиной 8 см при пропорциональном уменьшении значений кинетических параметров k_3 и k_4 для 0% (а), 50% (б), 70% (в), 90% (г) и 100% (д) длины тяжа. «Обработка» во всех случаях произведена на 50 мин. Толстая линия относится к «обработанному» торцу тяжа.

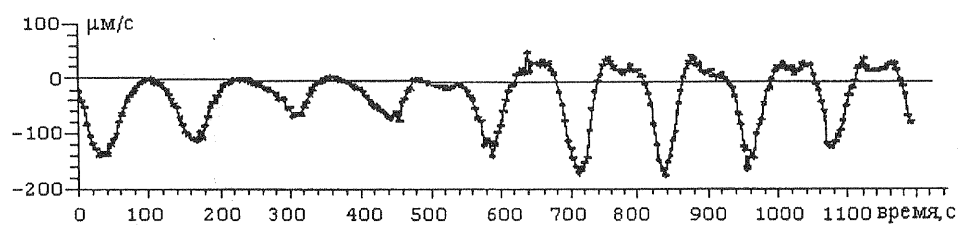


Рис. 6. Скорость челночного потока эндоплазмы между обработанной и интактной частями тяжа.

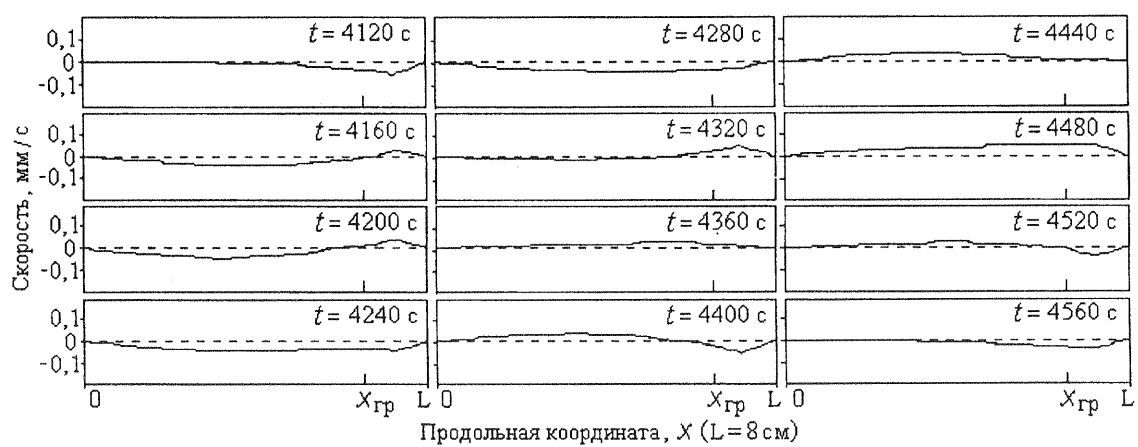


Рис. 7. Распределения скорости потока эндоплазмы вдоль модельного тяжа длиной 8 см в фиксированные моменты времени после его 80% «обработки».

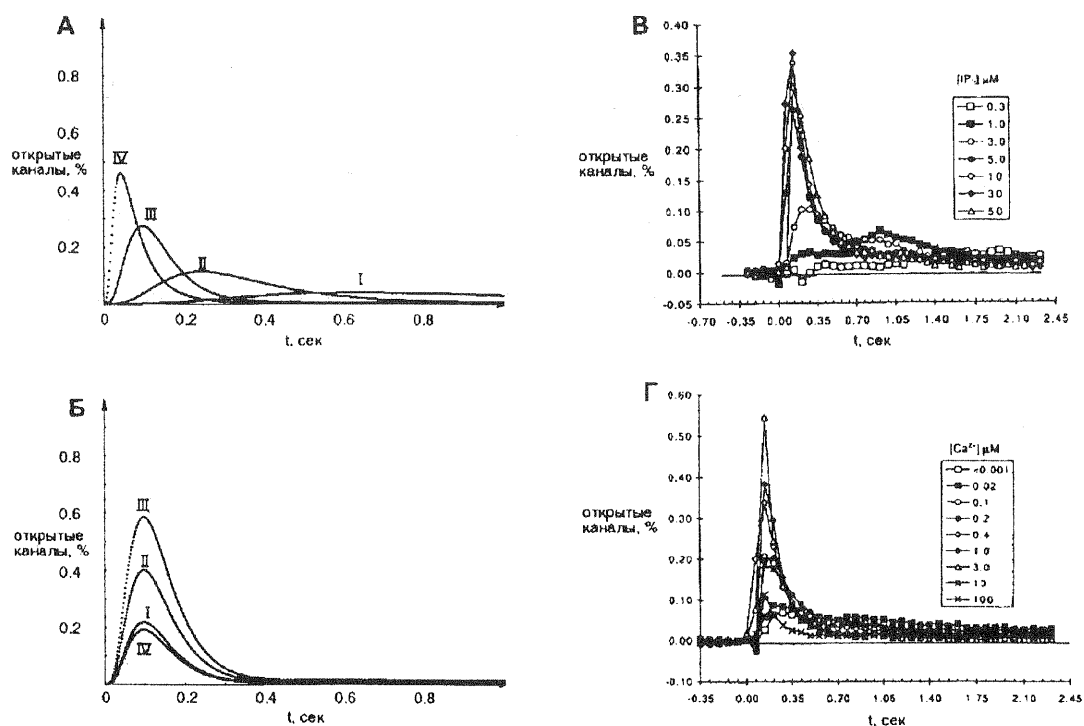


Рис. 8. Результаты численного моделирования кинетики открывания Ca^{2+} каналов на основе системы уравнений (1) при постоянной концентрации Ca^{2+} в $4.0E-0007$ М (а) и при постоянной концентрации ИЗФ в $1.0E-0005$ М (б). На а) кривые I-IV соответствуют концентрациям ИЗФ в $1.0E-0006$, $3.0E-0006$, $1.0E-0005$ и $3.0E-0006$ М, а на б) концентрациям Ca^{2+} в $2.0E-0007$, $1.0E-0006$, $3.0E-0006$ и $1.0E-0005$ М. Экспериментальные кривые, приведенные на в) и г) для сравнения с результатами моделирования, взяты из [24].

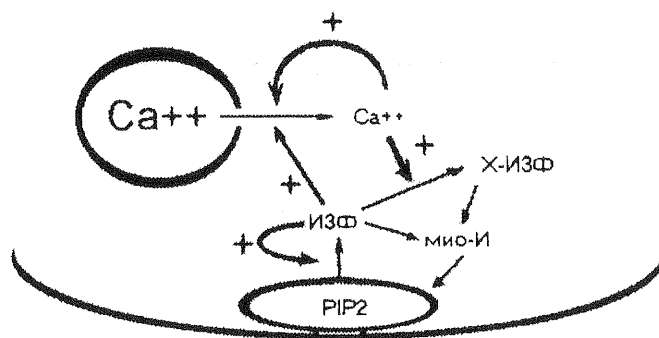


Рис. 9. Схема взаимодействий в инозитольном цикле, положенная в основу модели ИЗФ- Ca^{2+} автоволны. Обозначения в тексте.

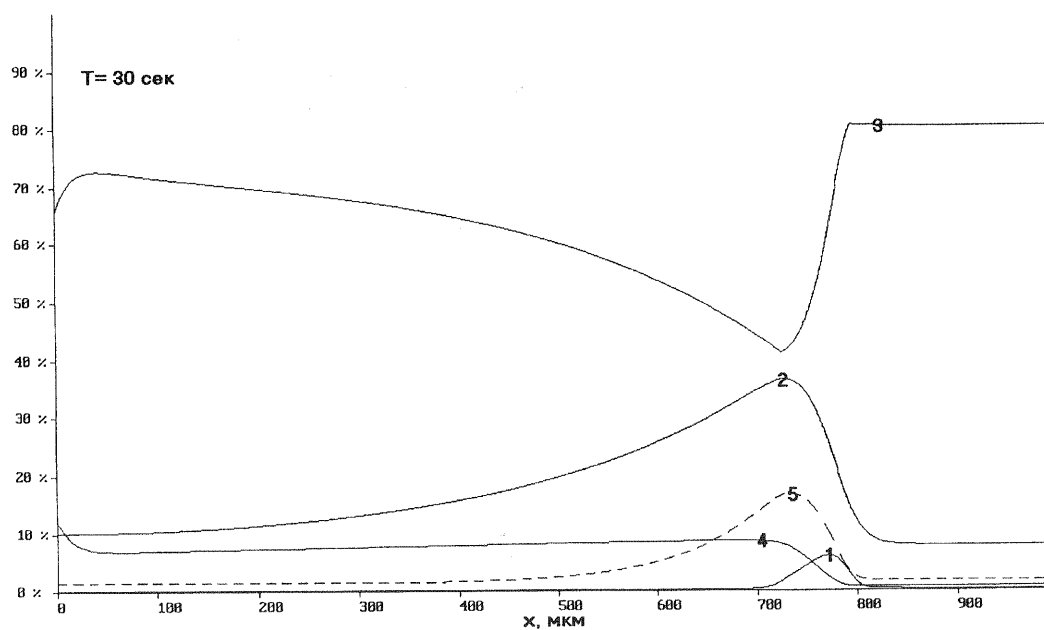
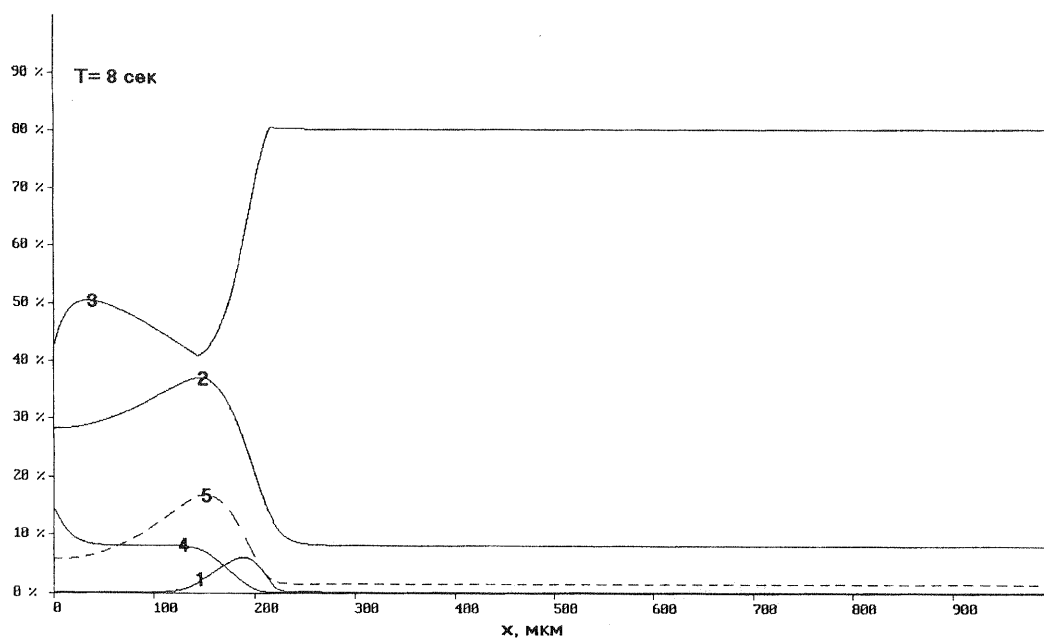


Рис. 10. Вид фазовой плоскости для точечной трехкомпонентной системы. По оси абсцисс — количество PIP2 в % от общего числа интермедиатов фосфоинозитидного цикла, по оси ординат — относительное количество ИЗФ. ИЗФ0 - пороговое значение ИЗФ, возбуждающее автокатализ.

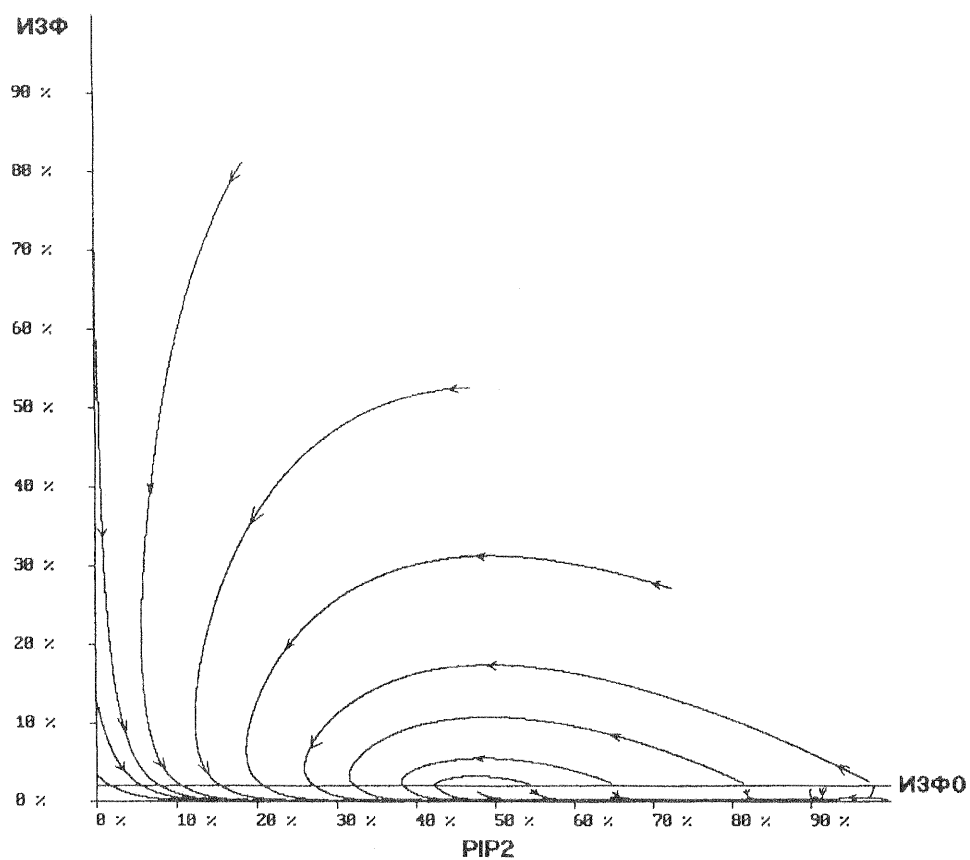


Рис. 11. Результаты численного моделирования ИЗФ- Ca^{2+} автоволны на восьмой (А) и тридцатой (Б) секунде. Обозначения: 1 - ИЗФ, 2 - мио-И, 3 - PIP2, 4 - X-ИЗФ, 5 - Ca^{2+} .

