

# МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ БІОХІМІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

УДК 576.342:576.314:577.352.4:577.353

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ КАЛЬЦИЕВОГО ГОМЕОСТАЗА В ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТКАХ В УСЛОВИЯХ МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ КАЛЬЦИЕВОГО НАСОСА ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

С. А. КАРАХИМ, В. Ф. ГОРЧЕВ, П. Ф. ЖУК, С. А. КОСТЕРИН

Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;  
e-mail: laserlab@biochem.kiev.ua; kinet@biochem.kiev.ua

Методом компьютерного моделирования исследована математическая модель внутриклеточного кальциевого гомеостаза в гладкомышечных клетках. Показано, что увеличение предельной скорости ( $V_{mPM}$ ) или уменьшение константы Михаэлиса ( $K_{mPM}$ ) кальциевого насоса плазматической мембраны (PMCA) приводит к снижению концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле и саркоплазматическом ретикулуме (SR); незначительное уменьшение  $V_{mPM}$  или увеличение  $K_{mPM}$  вызывает плавное повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле за счет медленного базального потока (МБП), поскольку не происходит массивного выброса  $Ca^{2+}$  из SR; при дальнейшем уменьшении  $V_{mPM}$  или увеличении  $K_{mPM}$  начинается процесс  $Ca^{2+}$ -индуцированного выброса  $Ca^{2+}$  из SR и система переходит в колебательный режим; при достижении определенного низкого уровня  $V_{mPM}$  или высокого уровня  $K_{mPM}$ , периодические колебания концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле прекращаются, остается только одно первое колебание, после которого плавно устанавливается новый уровень концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$ , намного более высокий, чем в исходном базальном состоянии (ИБС); чувствительность миоцитов с пониженной  $V_{mPM}$  или повышенной  $K_{mPM}$  к действию агониста повышается, а миоцитов с увеличенной  $V_{mPM}$  или с уменьшенной  $K_{mPM}$  — снижается. В случае изменения параметров PMCA ( $V_{mPM}$  или  $K_{mPM}$ ) пассивный поток  $Ca^{2+}$  в цитозоль из внеклеточного пространства остается практически неизменным (и равным по величине МБП) на протяжении всего процесса, а начальная скорость работы PMCA в новом равновесном состоянии (НРС) практически равна начальной скорости в ИБС: это позволяет вычислять новое значение  $V_{mPM}$  или  $K_{mPM}$  по величине концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле в НРС.

**Ключевые слова:** кальциевый гомеостаз, кальциевый насос, плазматическая мембрана, трансмембранный перенос кальция, математическая модель, предельная скорость, константа Михаэлиса, внутриклеточный кальций.

Учитывая фундаментальную роль  $Ca^{2+}$  в обеспечении функциональной активности клеток практически всех тканей, в том числе гладкомышечных [1–4], актуальной задачей является поиск или синтез веществ, способных влиять на работу систем энергозависимого транспорта этих ионов [5], а также исследование механизмов и эффектов от воздействия данных веществ с перспективой использования их для нормализации работы систем энергозависимого транспорта при различных патологиях [6, 7]. Особенно перспективным является исследование кальциевого насоса плазматической мембраны (PMCA),

для которого в настоящее время нет в достаточной степени избирательных ингибиторов [8], а, следовательно, существенно ограничены возможности изучения его свойств и идентификации возможной функциональной роли в обеспечении внутриклеточного кальциевого гомеостаза в гладких мышцах. Именно PMCA поддерживает стационарное значение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле, регулируя, таким образом, миогенный тонус гладких мышц. Нарушение их сократительной функции приводит к различным патологиям [6] и может быть вызвано изменением активности PMCA, в результате чего концентрация  $Ca^{2+}$  в цитозоле

может значительно отличаться от базального уровня. Для нормализации уровня  $Ca^{2+}$  в цитозоле, наряду с веществами, открывающими кальциевые каналы на плазматической мембране (PM), могут также использоваться препараты, модулирующие активность PMCA.

В данной работе методом математического моделирования проведено исследование влияния модуляции активности кальциевого

насоса плазматической мембраны на кинетику изменения концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле и уровень концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  в новом равновесном состоянии (НРС). При разработке математической модели кальциевого гомеостаза исходили из следующих представлений:

1) в невозбужденном состоянии (исходное базальное состояние (ИБС)) существует мед-

*Список сокращений и обозначений, использованных в статье:*

PM	плазматическая мембрана
SR	саркоплазматический ретикулум
ВКП	внеклеточное пространство
ИБС	исходное базальное состояние
НРС	новое равновесное состояние, установившееся после изменения параметров кальциевого насоса плазматической мембраны или после добавления агониста
МБП	медленный базальный поток кальция из внеклеточного пространства в цитозоль через закрытые кальциевые каналы плазматической мембраны
PMCA	кальциевый насос плазматической мембраны
SERCA	кальциевый насос саркоплазматического ретикулума
$[Ca^{2+}]_o$	концентрация $Ca^{2+}$ во внеклеточном пространстве
$[Ca^{2+}]_r$	концентрация $Ca^{2+}$ в саркоплазматическом ретикулуме
$[Ca^{2+}]_c$	концентрация $Ca^{2+}$ в цитозоле
$[Ca^{2+}]_{o,b}$	концентрация $Ca^{2+}$ во внеклеточном пространстве в исходном базальном состоянии
$[Ca^{2+}]_{r,b}$	концентрация $Ca^{2+}$ в саркоплазматическом ретикулуме в исходном базальном состоянии
$[Ca^{2+}]_{c,b}$	концентрация $Ca^{2+}$ в цитозоле в исходном базальном состоянии
$[Ca^{2+}]_{r,e}$	концентрация $Ca^{2+}$ в саркоплазматическом ретикулуме в новом равновесном состоянии
$[Ca^{2+}]_{c,e}$	концентрация $Ca^{2+}$ в цитозоле в новом равновесном состоянии
$V_{mPM}$	предельная скорость функционирования кальциевого насоса плазматической мембраны
$V_{mSR}$	предельная скорость функционирования кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума
$K_{mPM}$	константа Михаэлиса кальциевого насоса плазматической мембраны
$K_{mSR}$	константа Михаэлиса кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума
$V_{mPM}^{bas}$	предельная скорость функционирования кальциевого насоса плазматической мембраны в исходном базальном состоянии
$V_{mSR}^{bas}$	предельная скорость функционирования кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума в исходном базальном состоянии
$K_{mPM}^{bas}$	константа Михаэлиса кальциевого насоса плазматической мембраны в исходном базальном состоянии
$K_{mSR}^{bas}$	константа Михаэлиса кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума в исходном базальном состоянии
$V_{mPM}^{mod}$	предельная скорость функционирования кальциевого насоса плазматической мембраны после ее изменения
$V_{mPM}^{calc}$	предельная скорость функционирования кальциевого насоса плазматической мембраны после ее изменения, рассчитанная, исходя из концентрации $Ca^{2+}$ в цитозоле в новом равновесном состоянии
$K_{mPM}^{mod}$	константа Михаэлиса кальциевого насоса плазматической мембраны после ее изменения
$K_{mPM}^{calc}$	константа Михаэлиса кальциевого насоса плазматической мембраны после ее изменения, рассчитанная, исходя из концентрации $Ca^{2+}$ в цитозоле в новом равновесном состоянии

ленный базальный поток  $\text{Ca}^{2+}$  (МБП) в цитозоль ( $4,95 \cdot 10^{-15}$  моль  $\text{Ca}^{2+}/\text{см}^2 \cdot \text{с}$  [1]) [1, 9], который точно компенсируется работой РМСА, обеспечивающим концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле на уровне 0,1 мкМ [1, 10–12] (при концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  во внеклеточном пространстве (ВКП) 1 мМ [1–3, 9, 12, 13]);

2) пассивный поток  $\text{Ca}^{2+}$  через кальциевые каналы РМ и саркоплазматического ретикулума (SR) пропорционален разности концентраций свободного  $\text{Ca}^{2+}$  в смежных компартментах и количеству открытых каналов [1, 4, 11, 14];

3) функционирование кальциевых насосов РМ и SR подчиняется механизму Михаэлиса–Ментен [1, 4, 15];

4)  $\text{Ca}^{2+}$ , находящийся в цитозоле, связываясь с рецепторами кальциевых каналов SR [4], увеличивают в  $\mu_{SR}$  раз их пропускную способность;

5)  $\text{Ca}^{2+}$  из SR поступает в цитозоль по механизму  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного выброса  $\text{Ca}^{2+}$  [10, 13, 16–20] (в модели из внутриклеточных депо рассматривается только SR, который играет основную роль в процессе  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного выброса  $\text{Ca}^{2+}$ );

6) агонист, связываясь с рецепторами кальциевых каналов РМ [21], открывает эти каналы, увеличивая в  $\mu_{PM}$  раз их пропускную способность относительно  $\text{Ca}^{2+}$ ;

7) открытые кальциевые каналы РМ закрываются вследствие блокировки внутриклеточным  $\text{Ca}^{2+}$  (« $\text{Ca}^{2+}$ -зависимая инактивация») [1, 12, 13].

Модель основана на уравнениях формальной химической кинетики, состоит из 13 дифференциальных уравнений и позволяет рассчитывать концентрации всех участников процесса в любой момент времени [22]. Расчет ИБС до модуляции активности РМСА проводился, исходя из представленных начальных параметров модели (табл. 1). Через определенный интервал времени значения предельной скорости  $V_{mPM}^{bas}$  или константы Михаэлиса  $K_{mPM}^{bas}$ , которые характеризовали функционирование РМСА в ИБС (в расчетах с участием агониста — концентрация агониста во ВКП), мгновенно изменялись на другие значения ( $V_{mPM}^{mod}$  или  $K_{mPM}^{mod}$  соответственно). Расчеты проводились до того времени, пока не устанавливалось новое равновесное состояние (НРС) или колебательный режим.

Кинетика изменения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле определяется четырьмя потоками [14, 15]: 1) общего пассивного потока  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль из ВКП через  $\text{Ca}^{2+}$  каналы РМ, от-

крывающиеся агонистом, совмещенного с МБП ( $J_{p,PM,t}$ ); 2) общего пассивного потока  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль из SR через  $\text{Ca}^{2+}$  каналы мембраны SR, в том числе и в результате процесса  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного выброса  $\text{Ca}^{2+}$  ( $J_{p,SR,t}$ ); 3) общего активного потока  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля в SR, обусловленного работой кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума (SERCA) ( $J_{a,SR,t}$ ); 4) общего активного потока  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля в ВКП, величина которого определяется параметрами работы РМСА ( $J_{a,PM,t}$ ).

Все эти общие потоки выражаются в молях  $\text{Ca}^{2+}$ , перенесенного через всю площадь поверхности соответствующей мембраны, за 1 сек. Эти потоки можно сравнивать между собой, и рассчитывать величину общего потока, переносящего  $\text{Ca}^{2+}$  через РМ —  $J_{PM,t}$  ( $J_{PM,t} = J_{p,PM,t} + J_{a,PM,t}$ ), а также величину общего потока, переносящего  $\text{Ca}^{2+}$  через мембрану SR —  $J_{SR,t}$  ( $J_{SR,t} = J_{p,SR,t} + J_{a,SR,t}$ ). Положительное значение  $J_{PM,t}$  и  $J_{SR,t}$  означает, что  $\text{Ca}^{2+}$  поступает в цитозоль, а отрицательное —  $\text{Ca}^{2+}$  выкачивается из цитозоля. Сумма этих потоков ( $J_{Cyt} = J_{PM,t} + J_{SR,t}$ ) показывает величину и направление общего потока  $\text{Ca}^{2+}$  относительно цитозоля  $J_{Cyt}$ , т.е. баланс поступающего в цитозоль и выкачиваемого из него  $\text{Ca}^{2+}$ .

Для исследования кальциевого гомеостаза с учетом процесса  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного выброса  $\text{Ca}^{2+}$  в модель включены только необходимые функциональные элементы:

а) две мембраны (РМ и SR) с кальциевыми каналами, скорость функционирования которых пропорциональна градиенту концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  по обе стороны мембраны [1, 11, 14], и кальциевыми насосами, выкачивающими  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля со скоростью, зависящей от концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  [1, 4];

б) рецепторы на кальциевых каналах, с которыми могут связываться вещества, передающие сигнал (агонист для РМ [21] и  $\text{Ca}^{2+}$  для SR [4]), в результате чего каналы открываются, увеличивая при этом свою пропускную способность;

в) места связывания  $\text{Ca}^{2+}$  с кальциевыми каналами на цитозольной стороне РМ, отвечающие за инактивацию открытых кальциевых каналов цитозольным  $\text{Ca}^{2+}$  [1, 12, 13];

г) МБП  $\text{Ca}^{2+}$  в клетку из ВКП [1, 9], по которому «настраивается» скорость работы РМСА: этот поток имеет определяющее значение для модели.

В ИБС концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в ВКП ( $[\text{Ca}^{2+}]_{o,b}$ ), в цитозоле ( $[\text{Ca}^{2+}]_{c,b}$ ), в SR ( $[\text{Ca}^{2+}]_{r,b}$ ), а также параметры РМСА ( $V_{mPM}^{bas}$  и  $K_{mPM}^{bas}$ ) и SERCA ( $V_{mSR}^{bas}$  и  $K_{mSR}^{bas}$ ) однозначно определя-

Таблиця 1. Параметри і початкові умови моделі

Обозначение	Начальные условия	Величина	Размерность
$[Ca^{2+}]_{o,b}$	концентрация $Ca^{2+}$ во внеклеточном пространстве	1	мМ
$[Ca^{2+}]_{r,b}$	базальная концентрация $Ca^{2+}$ в саркоплазматическом ретикулуме	1	мМ
$[Ca^{2+}]_{c,b}$	базальная концентрация $Ca^{2+}$ в цитозоле	100	нМ
$[R]_{all}$	поверхностная концентрация кальциевых каналов (рецепторов) на РМ	0,01	нмоль/дм <sup>2</sup>
$[RR]_{all}$	поверхностная концентрация кальциевых каналов на мембране SR	0,01	нмоль/дм <sup>2</sup>
$V_o$	объем внеклеточного пространства, относящегося к одному миоциту	4000	мкм <sup>3</sup>
$V_{cell}$	объем внутриклеточного пространства (включая объем SR)	4000	мкм <sup>3</sup>
$V_c$	объем цитозоля	3960	мкм <sup>3</sup>
$V_r$	объем SR ( $n_r = 1$ )	40	мкм <sup>3</sup>
$S_{PM}$	площадь поверхности плазматической мембраны миоцита	8000	мкм <sup>2</sup>
$S_{SR}$	площадь поверхности мембраны саркоплазматического ретикулума	56,56	мкм <sup>2</sup>
$\mu_{PM}$	коэффициент усиления проводимости кальциевых каналов РМ	10	
$\mu_{SR}$	коэффициент усиления проводимости кальциевых каналов SR	400	
$V_{mPM}^{bas}$	предельная скорость функционирования кальциевого насоса РМ	200	нМ/с
$V_{mSR}^{bas}$	предельная скорость функционирования кальциевого насоса SR	200	нМ/с
$K_{mPM}^{bas}$	константа Михаэлиса кальциевого насоса РМ	100	нМ
$K_{mSR}^{bas}$	константа Михаэлиса кальциевого насоса SR	100	нМ
$k_1$	константа скорости связывания $Ca^{2+}$ с открытыми кальциевыми каналами РМ со стороны цитозоля ( $Ca^{2+}$ -зависимая инактивация каналов РМ)	$1 \cdot 10^9$	1/М·с
$k_{-1}$	константа скорости разблокирования инактивированных кальциевых каналов РМ с цитозольной стороны	$3 \cdot 10^4$	1/с
$k_2$	константа скорости связывания сигнального вещества (агониста) с рецепторами кальциевых каналов РМ (рецептор-зависимая активация кальциевых каналов РМ)	$5 \cdot 10^8$	1/М·с
$k_{-2}$	константа скорости инактивации кальциевых каналов РМ вследствие диссоциации комплекса рецептор–агонист	$3 \cdot 10^4$	1/с
$k_5$	константа скорости связывания $Ca^{2+}$ с рецепторами кальциевых каналов SR ( $Ca^{2+}$ -зависимая активация каналов SR)	$1 \cdot 10^8$	1/М·с
$k_{-5}$	константа скорости инактивации кальциевых каналов SR вследствие прекращения действия $Ca^{2+}$ на рецепторы кальциевых каналов SR	$1 \cdot 10^4$	1/с

ют скорость МБП  $\text{Ca}^{2+}$  через РМ в ИБС и пропускную способность кальциевых каналов SR в ИБС [22].

Таким образом, ИБС в разработанной модели позволяет «настроить» клеточную систему так, чтобы пассивный и активный транспорт через РМ и мембрану SR были уравновешены, позволяя поддерживать в цитозоле, SR и ВКП базальные концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  (100 нМ [1, 10–12], 1 мМ [11] и 1 мМ [1–3, 9, 12, 13] соответственно). Поскольку в рамках модели базальное состояние является равновесным, любое возмущение клеточной системы (ее стимуляция) приводит к появлению движущей силы, которая направлена на возвращение системы в исходное базальное равновесное состояние.

В ИБС клетка может находиться как угодно долго без видимых изменений макроскопических параметров, в частности, концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и SR (при неизменной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в ВКП). При этом РМСА и SERCA постоянно работают, выкачивая  $\text{Ca}^{2+}$ , который постоянно проникает через РМ в цитозоль и через мембрану SR в ретикулум. Способность к возвращению клеточной системы в то же состояние, в котором она находилась до начала процесса стимуляции, является фундаментальным принципом, позволяющим описывать кинетику циклических процессов в миоцитах и понять движущие силы этих процессов.

В литературе существуют разные точки зрения по вопросу существования МБП  $\text{Ca}^{2+}$ . Одни авторы фиксируют такой поток в исследуемых клетках [1, 3, 9, 15], другие его не находят [23], утверждая при этом, что  $\text{Ca}^{2+}$  обладает крайне низкой проницаемостью через РМ. Этот поток может проявляться в увеличении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле при увеличении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в ВКП [23–25]. Представленная модель разработана для таких миоцитов, у которых существует МБП, которая и придает модели новые фундаментальные свойства, являясь базовым потоком, на который в условиях стимуляции наслаиваются другие потоки. МБП определяет параметры работы РМСА, совместно с ним отвечает за поддержание базального уровня концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и позволяет полноценно функционировать системе кальциевого гомеостаза без положительных и отрицательных обратных связей, регулирующих работу РМСА.

При выбранных параметрах РМСА и SERCA начальные скорости их функционирования в ИБС составляют  $0,5 \cdot V_m$ , оставляя возможности для ее модуляции как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения.

В результате проведенных компьютерных расчетов в рамках предложенной модели установлено, что изменения кинетических параметров работы РМСА существенно влияют на кинетику и концентрацию цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ . Так, увеличение  $V_{mPM}$  или уменьшение  $K_{mPM}$  вызывает резкое снижение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и установление НРС с более низким уровнем концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_{c,e}$ ), чем в ИБС (рис. 1, кривые 1–4). При этом по мере увеличения  $V_{mPM}$  (рис. 1, кривые 3, 2) или уменьшения  $K_{mPM}$  (рис. 1, кривые 4, 1)  $[\text{Ca}^{2+}]_{c,e}$  постепенно снижается. Она снижается практически экспоненциально при увеличении  $V_{mPM}$  (рис. 2, а, кривая 1) и пропорционально уменьшению  $K_{mPM}$  (рис. 2, б, кривая 1). В этих условиях концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в SR ( $[\text{Ca}^{2+}]_{r,e}$ ) также снижается и при увеличении  $V_{mPM}$  (рис. 2, а, кривая 2), и при уменьшении  $K_{mPM}$  (рис. 2, б, кривая 2).

Снижение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле происходит потому, что в момент увеличения  $V_{mPM}$  или уменьшения  $K_{mPM}$  резко повышается начальная скорость работы РМСА  $v_0$  (пропорциональная потоку  $J_{a,PM,t}$ ). В частности, в исходном базальном состоянии  $v_0 = 0,5 \cdot V_m = 1 \cdot 10^{-7}$  М/с, а сразу после увеличения  $V_{mPM}$ , например (табл. 2), до 400 нМ/с,  $v_0$  становится равной  $1 \cdot V_m$  или  $2 \cdot 10^{-7}$  М/с, поскольку увеличивается только  $V_{mPM}$ , а  $K_{mPM}$  и концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле в этот момент остается на прежнем уровне. Соответственно происходит и увеличение потока  $J_{a,PM,t}$  в два раза (табл. 2).

Это приводит к тому, что скорость активного транспорта через РМ становится выше скорости пассивного и часть  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля выкачивается в ВКП. В результате снижения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле SERCA начинает медленнее закачивать кальций в SR, а поток  $\text{Ca}^{2+}$  из SR в цитозоль хотя также уменьшается, но в целом остается больше по величине, чем поток в SR — эти факторы приводят к снижению концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в SR (рис. 2, кривые 2; табл. 2). Таким образом, в НРС концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле ( $[\text{Ca}^{2+}]_{c,e}$ ) и SR ( $[\text{Ca}^{2+}]_{r,e}$ ) становятся меньше, чем в ИБС; т.е. в результате увеличения  $V_{mPM}$  или уменьшения  $K_{mPM}$  часть  $\text{Ca}^{2+}$  покидает пределы клетки, концентрируясь в ВКП (табл. 2).

По мере приближения к НРС поток  $\text{Ca}^{2+}$ , обусловленный работой РМСА, уменьшается вследствие снижения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле, а пассивный поток  $\text{Ca}^{2+}$  через РМ практически не изменяется. При достижении равновесия (НРС) эти потоки становятся рав-

Таблиця 2. Изменение во времени ( $t$ ) концентрации  $Ca^{2+}$  во внеклеточном пространстве ( $[Ca^{2+}]_o$ ), в цитозоле ( $[Ca^{2+}]_c$ ) и SR ( $[Ca^{2+}]_r$ ), а также общих пассивных потоков  $Ca^{2+}$  в цитозоль из ВКП ( $J_{p,PM,t}$ ) и из SR ( $J_{p,SR,t}$ ) и активных потоков  $Ca^{2+}$  из цитозоля в SR ( $J_{a,SR,t}$ ) и ВКП ( $J_{a,PM,t}$ ) после увеличения (на 5 секунде)  $V_{mPM}$  с 200 до 400 нМ/с

t, с	$[Ca^{2+}]_o$ , мМ	$[Ca^{2+}]_c$ , нМ	$[Ca^{2+}]_r$ , мМ	$J_{p,PM,t}$ , моль/с	$-J_{a,PM,t}$ , моль/с	$J_{p,SR,t}$ , моль/с	$-J_{a,SR,t}$ , моль/с
5	1,000000	100,0	1,000000	$3,96000 \cdot 10^{-19}$	$3,96000 \cdot 10^{-19}$	$3,96000 \cdot 10^{-19}$	$3,96000 \cdot 10^{-19}$
5,0001	1,000000	100,0	1,000000	$3,96000 \cdot 10^{-19}$	$7,91962 \cdot 10^{-19}$	$3,95997 \cdot 10^{-19}$	$3,95981 \cdot 10^{-19}$
5,1	1,000009	91,2	0,999990	$3,96007 \cdot 10^{-19}$	$7,55380 \cdot 10^{-19}$	$3,86042 \cdot 10^{-19}$	$3,77690 \cdot 10^{-19}$
5,4	1,000033	70,8	0,999828	$3,96024 \cdot 10^{-19}$	$6,56653 \cdot 10^{-19}$	$3,63033 \cdot 10^{-19}$	$3,28327 \cdot 10^{-19}$
5,7	1,000049	58,4	0,999480	$3,96036 \cdot 10^{-19}$	$5,83750 \cdot 10^{-19}$	$3,48869 \cdot 10^{-19}$	$2,91875 \cdot 10^{-19}$
6,0	1,000061	51,4	0,998992	$3,96044 \cdot 10^{-19}$	$5,37935 \cdot 10^{-19}$	$3,40880 \cdot 10^{-19}$	$2,68967 \cdot 10^{-19}$
6,6	1,000079	46,0	0,997795	$3,96053 \cdot 10^{-19}$	$4,98815 \cdot 10^{-19}$	$3,34325 \cdot 10^{-19}$	$2,49408 \cdot 10^{-19}$
18	1,000328	43,5	0,973216	$3,96152 \cdot 10^{-19}$	$4,79843 \cdot 10^{-19}$	$3,23334 \cdot 10^{-19}$	$2,39921 \cdot 10^{-19}$
54	1,001004	41,4	0,905820	$3,96421 \cdot 10^{-19}$	$4,63636 \cdot 10^{-19}$	$2,98821 \cdot 10^{-19}$	$2,31818 \cdot 10^{-19}$
150	1,002231	37,8	0,783438	$3,96908 \cdot 10^{-19}$	$4,34893 \cdot 10^{-19}$	$2,55320 \cdot 10^{-19}$	$2,17446 \cdot 10^{-19}$
341	1,003327	34,9	0,674231	$3,97343 \cdot 10^{-19}$	$4,09916 \cdot 10^{-19}$	$2,17497 \cdot 10^{-19}$	$2,04958 \cdot 10^{-19}$
461	1,003599	34,2	0,647019	$3,97452 \cdot 10^{-19}$	$4,03783 \cdot 10^{-19}$	$2,08206 \cdot 10^{-19}$	$2,01892 \cdot 10^{-19}$
860	1,003849	33,6	0,622141	$3,97551 \cdot 10^{-19}$	$3,98206 \cdot 10^{-19}$	$1,99757 \cdot 10^{-19}$	$1,99103 \cdot 10^{-19}$
1760	1,003878	33,5	0,619277	$3,97562 \cdot 10^{-19}$	$3,97566 \cdot 10^{-19}$	$1,98787 \cdot 10^{-19}$	$1,98783 \cdot 10^{-19}$
3560	1,003878	33,5	0,619259	$3,97562 \cdot 10^{-19}$	$3,97562 \cdot 10^{-19}$	$1,98781 \cdot 10^{-19}$	$1,98781 \cdot 10^{-19}$

ними и сопоставимыми по величине с МБП (табл. 2).

Уменьшение  $V_{mPM}$  или увеличение  $K_{mPM}$  вызывает повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле (рис. 1, кривые 5–8). Это происходит исключительно за счет МБП, поскольку понижение  $V_{mPM}$  или увеличение  $K_{mPM}$  нарушает баланс потоков и теперь МБП в цитозоль становится больше потока из цитозоля в ВКП, за который отвечает РМСА (начальная скорость работы РМСА  $v_0$  резко уменьшается).

При незначительном уменьшении  $V_{mPM}$  (рис. 1, кривые 5, 7) или увеличении  $K_{mPM}$  (рис. 1, кривые 6, 8), новый уровень концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле ( $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ) устанавливается плавно, поскольку не происходит массивного выброса  $Ca^{2+}$  из SR. Напротив, часть  $Ca^{2+}$  из цитозоля закачивается в SR (рис. 2, кривые 2; табл. 3), который в данном случае выполняет роль буфера. В этих условиях происходит перемещение некоторого количества  $Ca^{2+}$  из ВКП в клетку, где он распределяется между цитозолем и SR.

При дальнейшем уменьшении  $V_{mPM}$  или увеличении  $K_{mPM}$  начинается процесс  $Ca^{2+}$ -индуцированного выброса  $Ca^{2+}$  из SR и система переходит в колебательный режим (рис. 3,

кривые 1, 2). В этом режиме уменьшение  $V_{mPM}$  или увеличение  $K_{mPM}$  приводит к небольшому увеличению амплитуды и частоты колебаний.

При достижении определенного низкого  $V_{mPM}$  или высокого уровня  $K_{mPM}$ , периодические колебания концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле прекращаются, остается только одно первое колебание, после которого плавно устанавливается новый уровень концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  ( $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ), намного более высокий, чем в ИБС (рис. 3, кривые 3–5).  $[Ca^{2+}]_{c,e}$  повышается по мере уменьшения  $V_{mPM}$  или увеличения  $K_{mPM}$  (рис. 3, кривые 3, 5), а концентрация  $Ca^{2+}$  в SR ( $[Ca^{2+}]_{r,e}$ ) при этом сначала уменьшается, а затем начинает медленно возрастать, приближаясь по величине к  $[Ca^{2+}]_{c,e}$  (рис. 2, а, кривая 2).

Из полученных результатов видно, что закономерности изменения концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле при варьировании  $V_{mPM}$  и  $K_{mPM}$  в целом схожи, но имеют антибатную зависимость. Подобная картина наблюдается также при действии агонистов (А): при относительно низких концентрациях А происходит плавное и незначительное увеличение концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  ( $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ); при более высоких концентрациях А появляются осцилляции концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  (при увели-

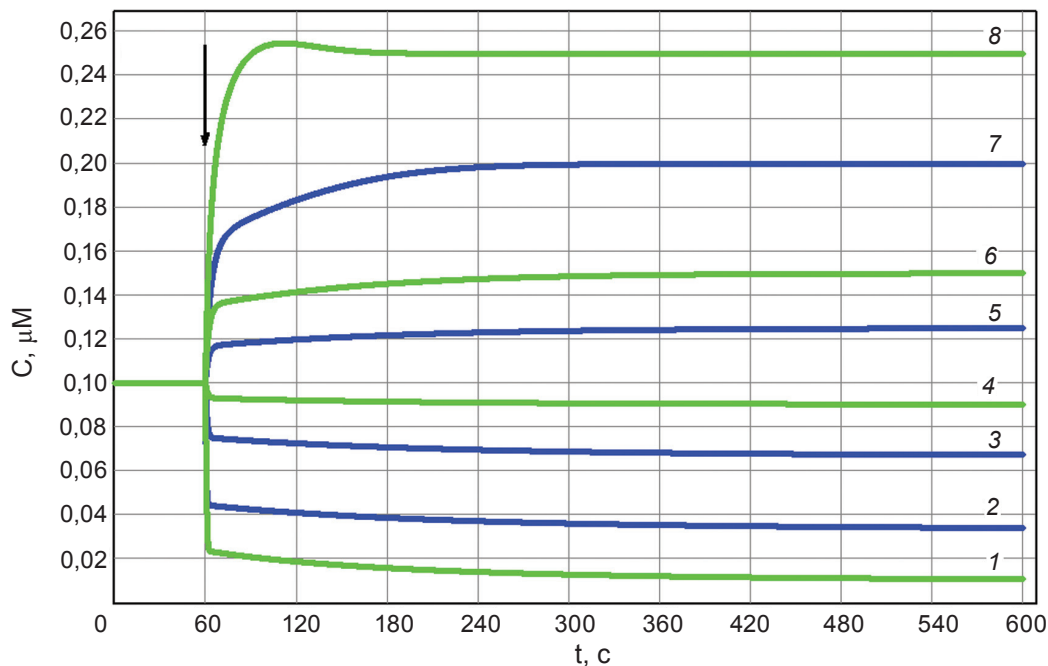


Рис. 1. Влияние изменения  $V_{mPM}$  (кривые 2, 3, 5, 7, обозначены синим цветом) или  $K_{mPM}$  (кривые 1, 4, 6, 8 – зеленым) на концентрацию  $Ca^{2+}$  в цитозоле. Изменение  $V_{mPM}$  и  $K_{mPM}$  происходит в момент времени – 60 с (показано черной стрелкой). В ИБС (до 60 с)  $V_{mPM}^{bas} = 200$  нМ/с,  $K_{mPM}^{bas} = 100$  нМ. По мере уменьшения  $V_{mPM}$  (2 – 400; 3 – 250; 5 – 180; 7 – 150 нМ/с) и увеличения  $K_{mPM}$  (1 – 10; 4 – 90; 6 – 150; 8 – 250 нМ) уровень концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  в НРС повышается

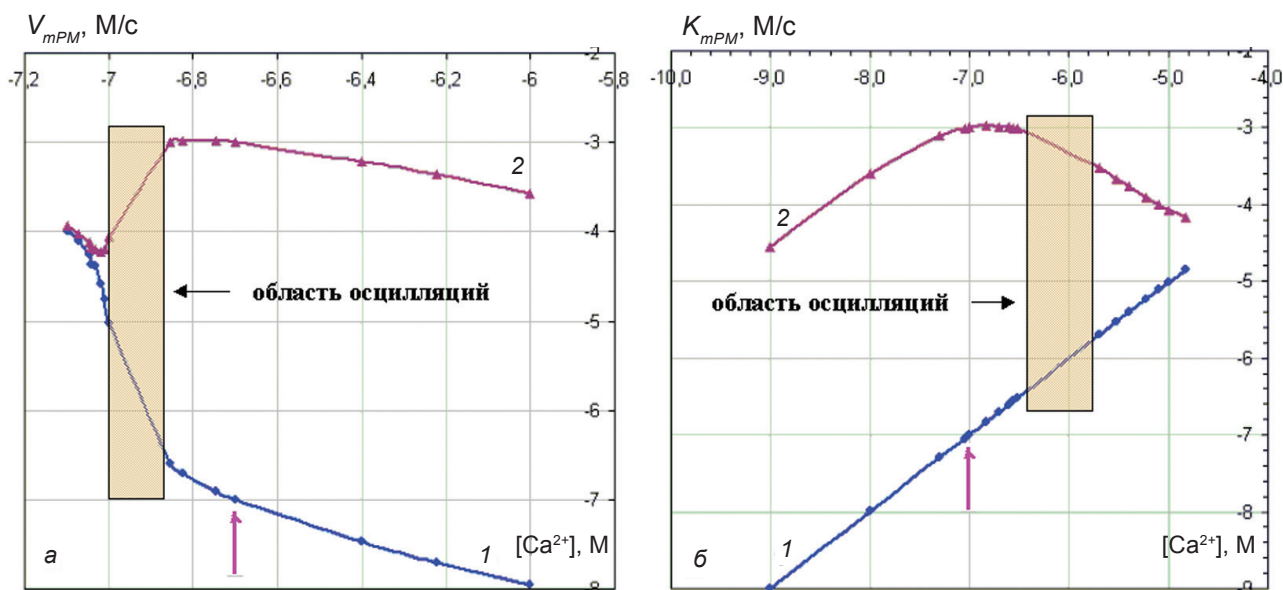


Рис. 2. Зависимость (в логарифмическом масштабе) уровня концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле (кривые 1 синего цвета) и SR (кривые 2 темно-розового цвета) в НРС от параметров РМСА:  $V_{mPM}$  (а) и  $K_{mPM}$  (б). Стрелкой розового цвета указано ИБС

чении  $A$  амплитуда колебаний возрастает, а частота уменьшается), а при дальнейшем повышении концентрации  $A$  осцилляции исчезают,

остается только одно первое колебание, после которого плавно устанавливается новый уровень  $[Ca^{2+}]_{c,e}$ . В этом случае также при низких

Таблиця 3. Равновесные значения (в НРС) концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле ( $[Ca^{2+}]_c$ ) и SR ( $[Ca^{2+}]_r$ ), общих пассивных потоков  $Ca^{2+}$  в цитозоль из внеклеточного пространства ( $J_{p,PM,t}$ ) и SR ( $J_{p,SR,t}$ ), общих потоков  $Ca^{2+}$ , обусловленных работой PMCA ( $J_{a,PM,t}$ ) и SERCA ( $J_{a,SR,t}$ ) для различных  $V_{mPM}$ . В исходном состоянии  $V_{mPM} = 200$  нМ/с

№	$V_{mPM}$ , нМ/с	$[Ca^{2+}]_c$ , $\mu$ М	$[Ca^{2+}]_r$ , мМ	$J_{p,PM,t}$ , моль/с	$-J_{a,PM,t}$ , моль/с	$J_{p,SR,t}$ , моль/с	$-J_{a,SR,t}$ , моль/с
1	200	0,100	1,000	$3,96 \cdot 10^{-19}$	$3,96 \cdot 10^{-19}$	$3,96 \cdot 10^{-19}$	$3,96 \cdot 10^{-19}$
2	400	0,034	0,630	$3,98 \cdot 10^{-19}$	$3,98 \cdot 10^{-19}$	$1,99 \cdot 10^{-19}$	$1,99 \cdot 10^{-19}$
3	150	0,199	1,038	$3,96 \cdot 10^{-19}$	$3,96 \cdot 10^{-19}$	$5,28 \cdot 10^{-19}$	$5,28 \cdot 10^{-19}$
4	100	9,507	0,087	$3,92 \cdot 10^{-19}$	$3,92 \cdot 10^{-19}$	$7,84 \cdot 10^{-19}$	$7,84 \cdot 10^{-19}$
5	85	79,762	0,095	$3,36 \cdot 10^{-19}$	$3,36 \cdot 10^{-19}$	$7,91 \cdot 10^{-19}$	$7,91 \cdot 10^{-19}$

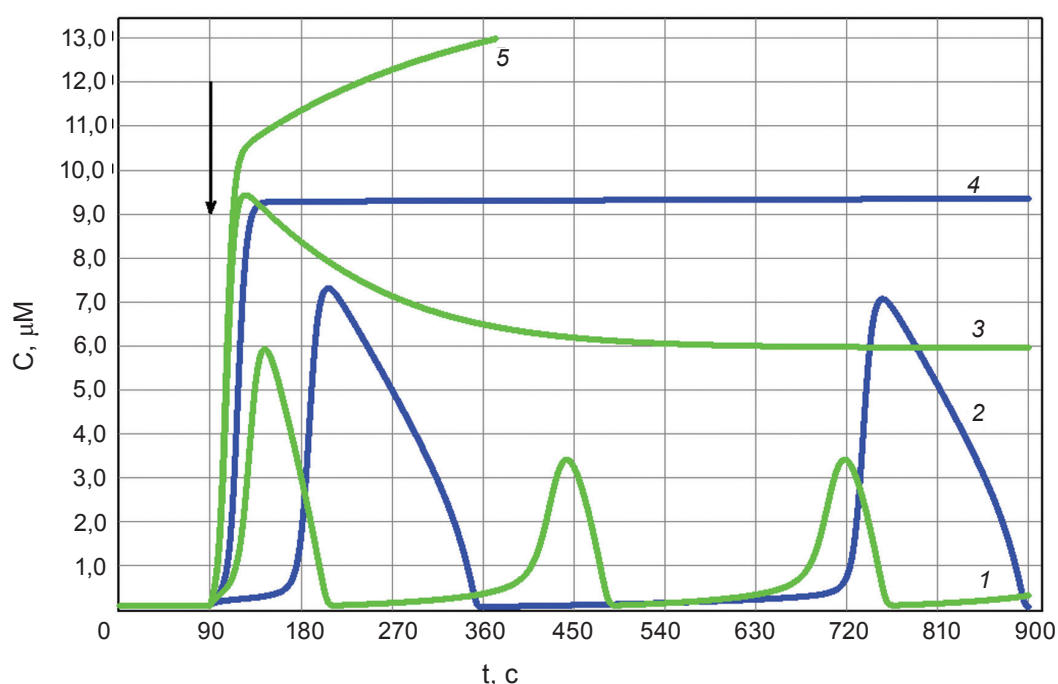


Рис. 3. Кинетика накопления  $Ca^{2+}$  в цитозоле при относительно высоких значениях  $K_{mPM}$  (кривые 1, 3, 5, обозначены зеленым цветом) и низких  $V_{mPM}$  (кривые 2, 4 – синим). Изменение  $V_{mPM}$  и  $K_{mPM}$  происходит в момент времени – 60 с (показано черной стрелкой). В ИБС (до 60 с)  $V_{mPM}^{bas} = 200$  нМ/с,  $K_{mPM}^{bas} = 100$  нМ. По мере уменьшения  $V_{mPM}$  (2 – 138; 4 – 100 нМ/с) и увеличения  $K_{mPM}$  (1 – 0,4; 3 – 6; 5 – 15  $\mu$ М) возникают колебания концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле, затем прекращающиеся, остается только одно первое колебание, после которого концентрация  $Ca^{2+}$  уменьшается или далее возрастает, выходя на НРС

концентраціях агоніста SR закачиває част  $Ca^{2+}$  із цитозоля, а при більш високих – починає його вибрасувати.

Поэтому при экспериментальном изучении действия этих факторов на уровень цитозольной концентрации  $Ca^{2+}$  в НРС ( $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ) тяжело различить действие веществ, уменьшающих  $V_{mPM}$ , увеличивающих  $K_{mPM}$  или открывающих кальциевые каналы на PM. Для сравнения, на рис. 4 показано действие таких

веществ в случае, когда происходит незначительное повышение концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  (кривые 1–3), а также при существенном ее увеличении после окончания колебательного режима (кривые 4–6). Видно, что полученные зависимости очень похожи.

Важным аспектом численных экспериментов было исследование взаимного влияния действующих факторов при совместном применении. Из анализа модели следует, что чув-



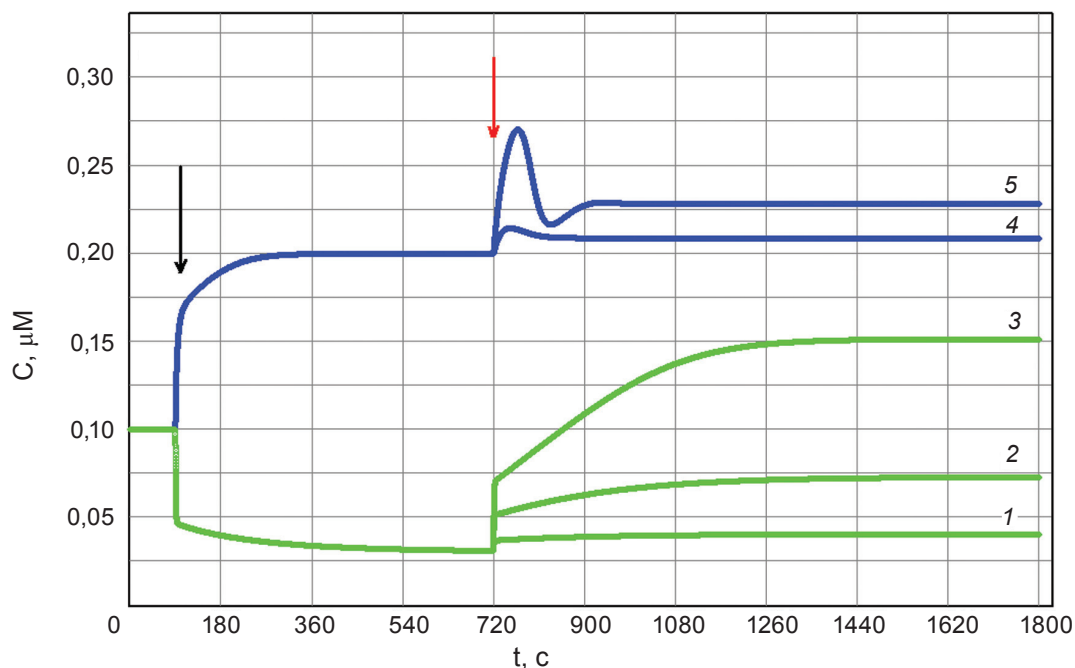


Рис. 4. Изменение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле при совместном действии агониста (А) и изменения параметров РМСА  $K_{mPM}$  (кривые 1–3, обозначены зеленым цветом) и  $V_{mPM}$  (кривые 4, 5 – синим цветом). Изменение  $V_{mPM}$  и  $K_{mPM}$  происходит в момент времени (60 с), указанный черной стрелкой, а внесение агониста во ВКП – красной (720 с). В ИБС (до 60 с)  $V_{mPM}^{bas} = 200$  нМ/с,  $K_{mPM}^{bas} = 100$  нМ,  $A = 0$  μМ. Вслед за уменьшением  $K_{mPM}$  до 30 нМ концентрация  $Ca^{2+}$  в цитозоле снижалась до 30 нМ, после чего добавляется агонист (1 – 1; 2 – 3; 3 – 5 μМ), что приводит к повышению концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$ . Уменьшение  $V_{mPM}$  до 150 нМ/с вызывает увеличение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле до 200 нМ, а последующее прибавление агониста (4 – 0,1; 5 – 0,3 μМ) приводит к дальнейшему возрастанию концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле

ствительность миоцитов с увеличенной  $V_{mPM}$  или со сниженной  $K_{mPM}$  (рис. 5, кривые 1–3) к действию агониста снижается и это снижение тем больше, чем выше  $V_{mPM}$  или ниже  $K_{mPM}$ . Например, агонист вызывает появление осцилляций при концентрации 3,5 μМ у клеток с  $V_{mPM} = 0,2$  μМ/с, в то время как у клеток с  $V_{mPM} = 0,4$  μМ/с осцилляции появляются при концентрации агониста 30 μМ, а у клеток с  $V_{mPM} = 1,0$  μМ/с осцилляции не появляются даже при концентрации агониста 1 мМ. Также агонист вызывает появление осцилляций при концентрации 3,5 μМ у клеток с  $K_{mPM} = 0,1$  μМ в то время как у клеток с  $K_{mPM} = 0,01$  μМ осцилляции появляются при концентрации агониста 7 μМ.

Чувствительность миоцитов к действию агониста снижается потому, что возрастание  $V_{mPM}$  или снижение  $K_{mPM}$  приводит к снижению уровня концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  в НРС ( $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ), действие же агониста состоит в повышении концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле,

начиная с установившегося уровня (т.е. с уровня  $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ), в данном случае – более низкого (рис. 5, кривые 1–3). При этом наблюдаются все этапы, отмеченные выше: незначительное увеличение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле (рис. 5, кривые 1–3), осцилляции и одно колебание с установлением нового уровня концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$ , но для их реализации нужны несколько большие концентрации агониста вследствие снижения чувствительности миоцита к его действию.

Наоборот, чувствительность к действию агониста повышается у миоцитов со сниженной  $V_{mPM}$  или повышенной  $K_{mPM}$ . В этих условиях наблюдается повышение уровня концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  в НРС ( $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ), который еще больше возрастает при действии агониста (рис. 5, кривые 4, 5). Если у клеток с  $V_{mPM} = 0,2$  μМ/с агонист вызывает появление осцилляций при концентрации 3,5 μМ, то у клеток с  $V_{mPM} = 0,15$  μМ/с осцилляции появляются при концентрации агониста 0,4 μМ. Ос-

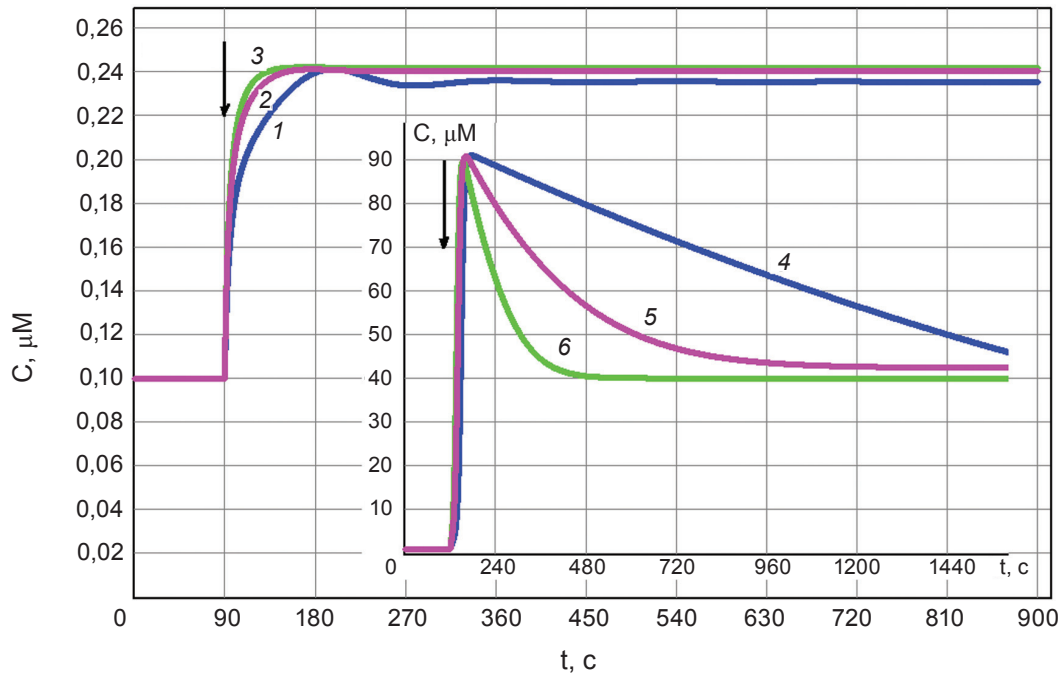


Рис. 5. Сравнение зависимостей концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле от времени, полученных при изменении  $V_{mPM}$  (кривые 1, 4 обозначены синим цветом: 1 – 142,4; 4 – 104 нМ/с),  $K_{mPM}$  (кривые 3, 6 – зеленым цветом: 3 – 242 нМ; 6 – 4  $\mu\text{M}$ ) и применении агониста (кривые 2, 5 обозначены розовым цветом: 2 – 3; 5 – 8,5  $\mu\text{M}$ ). Время изменения этих параметров указано черной стрелкой. В ИБС  $V_{mPM}^{bas} = 200$  нМ/с,  $K_{mPM}^{bas} = 100$  нМ,  $A = 0$

цилляции исчезают у клеток с  $V_{mPM} = 0,2$   $\mu\text{M}/\text{с}$  при концентрации агониста 8  $\mu\text{M}$ , а у клеток с  $V_{mPM} = 0,15$   $\mu\text{M}/\text{с}$  – при 4  $\mu\text{M}$ .

В случае изменения параметров насоса РМ ( $V_{mPM}$  или  $K_{mPM}$ ) пассивный поток  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль из ВКП остается практически неизменным (и равным по величине МБП) на протяжении всего процесса (табл. 2). Это можно объяснить тем, что в случае, когда кальциевые каналы РМ не открываются, величина потока  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль может измениться только за счет разности концентраций  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и ВКП. Концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в ВКП остается практически неизменной, поскольку содержание  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле на 3–4 порядка, а в SR – приблизительно на 2 порядка меньше, чем в ВКП, а такие относительно малые количества не могут существенно изменить концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в ВКП. Увеличение же концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле даже в 100 раз не может существенно сказаться на величине градиента  $\text{Ca}^{2+}$ , поскольку даже в этом случае величина цитозольной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  будет составлять около 1% от его внеклеточной концентрации. Поэтому величина градиента концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  может измениться не более, чем на несколько процентов, а, соответственно, и вели-

чина потока  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль через РМ в НРС лишь на несколько процентов должна отличаться от величины МБП  $\text{Ca}^{2+}$  (табл. 3). Также и начальные скорости ( $v_0$ ) работы РМСА в ИБС и НРС должны практически совпадать. При этом скорость работы SERCA в НРС изменяется по сравнению с ИБС (табл. 3).

Однако значительное уменьшение  $V_{mPM}$  может привести к тому, что предельное значение  $v_0$  РМСА в НРС окажется меньше, чем  $v_0$  в ИБС (табл. 3, строка 5). В таком случае даже при максимальной скорости работы РМСА не может достичь той скорости, которая была в ИБС. Предельное значение  $v_0$  ограничивается новым значением предельной скорости ( $V_{mPM}^{mod}$ ) и остается меньше, чем  $v_0$  в ИБС. При этом и пассивный поток  $\text{Ca}^{2+}$  через РМ уменьшается за счет уменьшения градиента концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  (в основном за счет резкого повышения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле) и в результате в НРС величины этих потоков могут значительно отличаться от величины МБП (например, на 18%, как в случае, приведенном в табл. 3, строка 5). Однако случаи, когда  $V_{mPM}^{mod}$  оказывается меньше, чем  $v_0$  РМСА в ИБС, легко идентифицировать по виду зависимости концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле от времени. В

таких случаях наблюдается дальнейшее увеличение концентрации  $Ca^{2+}$  после резкого ее повышения в результате  $Ca^{2+}$ -индуцированного выброса  $Ca^{2+}$  из SR (как кривая 5 на рис. 3). Если же  $V_{mPM}^{mod}$  равна  $v_0$  РМСА в ИБС ( $v_0^{ИБС}$ ), то зависимость концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле от времени после резкого ее повышения в результате  $Ca^{2+}$ -индуцированного выброса  $Ca^{2+}$  из SR остается на том же уровне, не снижаясь и не повышаясь (рис. 3, кривая 4). Такие зависимости характеризуют состояние, когда для обеспечения скорости, необходимой для компенсации МБП, РМСА работает на пределе своих возможностей, т.е.  $v_0^{ИБС} = V_{mPM}^{mod}$ .

Во всех остальных случаях концентрация цитозольного  $Ca^{2+}$  в НРС ( $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ) устанавливается на таком уровне, чтобы начальная скорость РМСА в НРС оставалась практически на том же уровне, как и в ИБС (т.е. потоки  $Ca^{2+}$  через РМ в НРС близки по величине к МБП). Так, через начальную скорость оказываются связаны  $V_{mPM}^{mod}$  и  $[Ca^{2+}]_{c,e}$ , что позволяет вычислять новое значение  $V_{mPM}$ , исходя из концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  в НРС (если есть уверенность в том, что изменяется только  $V_{mPM}$ , а  $V_{mPM}^{bas}$  и  $K_{mPM}^{bas}$  в ИБС известны).

Например, в ИБС

$$v_0 = V_{mPM}^{bas} \cdot [Ca^{2+}]_{c,b} / (K_{mPM}^{bas} + [Ca^{2+}]_{c,b}) = (2 \cdot 10^{-7}) \cdot (1 \cdot 10^{-7}) / (1 \cdot 10^{-7} + 1 \cdot 10^{-7}) = 0,5 \cdot V_{mPM}^{bas} = 1 \cdot 10^{-7} \text{ М/с.}$$

Если после увеличения  $V_{mPM}$  концентрация  $Ca^{2+}$  в цитозоле в НРС ( $[Ca^{2+}]_{c,e}$ ) устанавливается на уровне  $0,034 \mu\text{М}$  (табл. 3, строка 2, рис. 1, кривая 2), а  $v_0$ , как было сказано выше, остается на том же уровне (т.е.  $v_0^{ИБС} = v_0^{НРС} = v_0$ ), то можно рассчитать новое значение  $V_{mPM}$  ( $V_{mPM}^{calc}$ ):

$$V_{mPM}^{calc} = v_0 \cdot (K_{mPM}^{bas} + [Ca^{2+}]_{c,e}) / [Ca^{2+}]_{c,e} = (1 \cdot 10^{-7}) \cdot (1 \cdot 10^{-7} + 0,34 \cdot 10^{-7}) / (0,34 \cdot 10^{-7}) = 3,94 \cdot 10^{-7} \text{ М/с} = 394 \text{ нМ/с.}$$

Это значение всего на 1,5% меньше истинного значения  $V_{mPM}^{mod}$ , которое составляет 400 нМ/с (табл. 3, строка 2; при этом в НРС  $v_0 = 0,25 \cdot V_{mPM}^{mod}$ ). Аналогичные расчеты приводят к значениям  $V_{mPM}^{calc} = 150$  нМ/с для  $V_{mPM}^{mod} = 150$  нМ/с (рис. 1, кривая 7; табл. 3, строка 3;  $v_0 = 0,66 \cdot V_{mPM}^{mod}$ ) и  $V_{mPM}^{calc} = 101$  нМ/с для  $V_{mPM}^{mod} = 100$  нМ/с (рис. 3, кривая 4; табл. 3, строка 4;  $v_0 = 0,99 \cdot V_{mPM}^{mod}$ ).

Подобным способом можно рассчитать новое значение  $K_{mPM}$  ( $K_{mPM}^{calc}$ ) по величине концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле в НРС, если есть уверенность в том, что изменяется только  $K_{mPM}$ , а  $V_{mPM}^{bas}$ ,  $K_{mPM}^{bas}$  и  $v_0$  в ИБС известны:  $K_{mPM}^{calc} = [Ca^{2+}]_{c,e} \cdot [(V_{mPM}^{bas} / v_0) - 1]$ . Рассчитанные значения  $K_{mPM}^{calc}$  составляют, например, 10,2; 90,0; 249,8; 3011,2; 5961,4; 14406 нМ для истинных значений  $K_{mPM}^{mod}$  10,0 нМ (рис. 1, кривая 1); 90,0 нМ (рис. 1, кривая 4); 250,0 нМ (рис. 1, кривая 8); 3000,0 нМ; 6000,0 нМ (рис. 3, кривая 3) и 15000 нМ (рис. 3, кривая 5) соответственно.

Если же для стимуляции использовать агонист, то в НРС скорость работы РМСА увеличивается по сравнению с ИБС, поскольку к МБП прибавляется поток  $Ca^{2+}$  из ВКП в цитозоль через открытые кальциевые каналы на РМ (табл. 4, строка 4). В НРС возрастает также скорость работы SERCA, поскольку увеличивается концентрация  $Ca^{2+}$  в цитозоле.

Данные, представленные в табл. 4, получены при стимуляции миоцита агонистом и зависимость концентрации цитозольного  $Ca^{2+}$  от времени для данного случая очень похожа на кривую 5 (рис. 5, начиная с красной стрелки). Она проходит через максимум (строка 2 в табл. 4), затем — через минимум (строка 3 в табл. 4), после чего выходит на НРС (строка 4 в табл. 4). Строка 1 относится к ИБС.

Таблица 4. Концентрация  $Ca^{2+}$  в цитозоле ( $[Ca^{2+}]_c$ ), общие пассивные потоки  $Ca^{2+}$  в цитозоль из ВКП ( $J_{p,PM,t}$ ) и SR ( $J_{p,SR,t}$ ), общие потоки  $Ca^{2+}$ , обусловленные работой РМСА ( $J_{a,PM,t}$ ) и SERCA ( $J_{a,SR,t}$ ), общие потоки  $Ca^{2+}$  в цитозоль через РМ ( $J_{PM,t}$ ) и SR ( $J_{SR,t}$ ) на разных участках зависимости концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле от времени (1 — исходное базальное состояние; 2 — максимум концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле; 3 — минимум концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле; 4 — новое равновесное состояние) при стимуляции миоцита агонистом в концентрации  $3,5 \mu\text{М}$

№	$[Ca^{2+}]_c, \mu\text{М}$	$J_{p,PM,t}$ , моль/с	$-J_{a,PM,t}$ , моль/с	$J_{PM,t}$ , моль/с	$J_{p,SR,t}$ , моль/с	$-J_{a,SR,t}$ , моль/с	$J_{SR,t}$ , моль/с
1	0,100	$3,96 \cdot 10^{-19}$	$3,96 \cdot 10^{-19}$	0,0	$3,96 \cdot 10^{-19}$	$3,96 \cdot 10^{-19}$	0,0
2	6,360	$5,51 \cdot 10^{-19}$	$7,80 \cdot 10^{-19}$	$-2,29 \cdot 10^{-19}$	$10,09 \cdot 10^{-19}$	$7,80 \cdot 10^{-19}$	$2,29 \cdot 10^{-19}$
3	0,089	$5,90 \cdot 10^{-19}$	$3,72 \cdot 10^{-19}$	$2,18 \cdot 10^{-19}$	$1,54 \cdot 10^{-19}$	$3,72 \cdot 10^{-19}$	$-2,18 \cdot 10^{-19}$
4	0,283	$5,85 \cdot 10^{-19}$	$5,85 \cdot 10^{-19}$	0,0	$5,85 \cdot 10^{-19}$	$5,85 \cdot 10^{-19}$	0,0

В точках максимума и минимума можно считать, что концентрация цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  неизменна. Как следует из табл. 4, это действительно так, поскольку общий поток  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль равен нулю:  $J_{\text{Cyt}} = J_{\text{PM},t} + J_{\text{SR},t} = 0$  (табл. 4, строки 2 и 3). Но при этом в максимуме (табл. 4, строка 2) существует поток  $\text{Ca}^{2+}$  из SR в цитозоль ( $J_{\text{SR},t} = 2,29 \cdot 10^{-19}$  моль/с) и равный по величине поток  $\text{Ca}^{2+}$  из цитозоля в ВКП ( $J_{\text{PM},t} = -2,29 \cdot 10^{-19}$  моль/с). Это означает, что в данный момент времени (соответствующий максимуму) практически идет выкачка  $\text{Ca}^{2+}$  из SR в ВКП через цитозоль, причем таким образом, что концентрация цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  остается неизменной. В точке минимума (табл. 4, строка 3) наблюдается обратная картина: идет закачка  $\text{Ca}^{2+}$  из ВКП в SR (со скоростью  $2,18 \cdot 10^{-19}$  моль/с) также через цитозоль, но без изменения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле [13].

Результаты расчетов показывают, что наличие МБП  $\text{Ca}^{2+}$  из ВКП в цитозоль дает возможность перезаполнять SR кальцием, а настройка скорости работы РМСА по МБП позволяет возвращаться в ИБС после прекращения стимуляции, возвращая в каждый компартмент или забирая из него ровно столько  $\text{Ca}^{2+}$ , сколько его было этим компартментом потеряно или получено во время стимуляции миоцита. При этом  $\text{Ca}^{2+}$  свободно перетекает из одного компартмента в другой.

Таким образом, методом компьютерного моделирования была исследована математическая модель внутриклеточного кальциевого гомеостаза в гладкомышечных клетках и показано, что модуляция активности кальциевого насоса плазматической мембраны существенно влияет на кинетику изменения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  и ее базальный уровень в цитозоле, контролируя таким образом базальный тонус мышц:

- увеличение  $V_{\text{mPM}}$  или уменьшение  $K_{\text{mPM}}$  приводит к снижению концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и SR, т.е. часть  $\text{Ca}^{2+}$  покидает пределы клетки, перетекая во ВКП;

- незначительное уменьшение  $V_{\text{mPM}}$  или увеличение  $K_{\text{mPM}}$  вызывает плавное повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле, так как не происходит массивного выброса  $\text{Ca}^{2+}$  из SR, в результате часть  $\text{Ca}^{2+}$  из ВКП перемещается за счет МБП в клетку, где он распределяется между цитозолем и SR;

- дальнейшее уменьшение  $V_{\text{mPM}}$  или увеличение  $K_{\text{mPM}}$  вызывает процесс  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного выброса  $\text{Ca}^{2+}$  из SR и система переходит в колебательный режим;

- при достижении определенного низкого уровня  $V_{\text{mPM}}$  или высокого уровня  $K_{\text{mPM}}$ , периодические колебания концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле прекращаются, остается только одно первое колебание, после которого плавно устанавливается новый уровень концентрации цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ , намного более высокий, чем в ИБС;

- при экспериментальном изучении трудно различить действие веществ, уменьшающих  $V_{\text{mPM}}$ , увеличивающих  $K_{\text{mPM}}$  или открывающих кальциевые каналы на РМ;

- чувствительность миоцитов со сниженной  $V_{\text{mPM}}$  или повышенной  $K_{\text{mPM}}$  к действию агониста повышается, а миоцитов с увеличенной  $V_{\text{mPM}}$  или с уменьшенной  $K_{\text{mPM}}$  – снижается;

- в случае изменения параметров РМСА ( $V_{\text{mPM}}$  или  $K_{\text{mPM}}$ ) пассивный поток  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоль из ВКП остается практически неизменным (и равным по величине МБП) на протяжении всего процесса, а начальная скорость работы РМСА в НРС практически равна начальной скорости в ИБС. Это позволяет вычислять новое значение  $V_{\text{mPM}}$  или  $K_{\text{mPM}}$  по величине концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле в НРС.

- наличие МБП  $\text{Ca}^{2+}$  из ВКП в цитозоль дает возможность перезаполнять SR кальцием, а настройка скорости работы РМСА по МБП позволяет возвращаться в ИБС после прекращения стимуляции, возвращая в каждый компартмент или забирая из него ровно столько  $\text{Ca}^{2+}$ , сколько его было этим компартментом потеряно или получено во время стимуляции миоцита.

### МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ КАЛЬЦІЄВОГО ГОМЕОСТАЗУ В ГЛАДЕНЬКОМ'ЯЗОВИХ КЛІТИНАХ В УМОВАХ МОДУЛЯЦІЇ АКТИВНОСТІ КАЛЬЦІЄВОЇ ПОМПИ ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ

С. О. Карахім, В. Ф. Горчев, П. Ф. Жук,  
С. О. Костерін

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна  
НАН України, Київ;  
e-mail: laserlab@biochem.kiev.  
ua; kinet@biochem.kiev.ua

Методом комп'ютерного моделювання досліджено математичну модель внутрішньоклітинного кальцієвого гомеостаза в гладеньком'язових клітинах. Показано, що збільшення граничної швидкості ( $V_{\text{mPM}}$ ) або зменшення константи Міхаеліса

( $K_{mPM}$ ) кальцієвої помпи плазматичної мембрани (PMCA) призводить до зниження концентрації  $Ca^{2+}$  в цитозолі і саркоплазматичному ретикулумі (SR); незначне зменшення  $V_{mPM}$  або збільшення  $K_{mPM}$  спричинює поступове підвищення концентрації  $Ca^{2+}$  в цитозолі за рахунок повільного базального потоку (ПБП), оскільки не відбувається масованого викиду  $Ca^{2+}$  з SR; у разі подальшого зменшення  $V_{mPM}$  або збільшення  $K_{mPM}$  починається процес  $Ca^{2+}$ -індукованого викиду  $Ca^{2+}$  з SR і система переходить в коливальний режим; у разі досягнення певного низького рівня  $V_{mPM}$  чи високого рівня  $K_{mPM}$ , періодичні коливання концентрації  $Ca^{2+}$  в цитозолі припиняються, залишається тільки одне перше коливання, після якого поступово встановлюється новий рівень концентрації цитозольного  $Ca^{2+}$ , набагато вищий, ніж у вихідному базальному стані (ВБС); чутливість міоцитів зі зниженою  $V_{mPM}$  чи збільшеною  $K_{mPM}$  до дії агоніста підвищується, а міоцитів зі збільшеною  $V_{mPM}$  чи зі зменшеною  $K_{mPM}$  — знижується. У випадку зміни параметрів PMCA ( $V_{mPM}$  чи  $K_{mPM}$ ) пасивний потік  $Ca^{2+}$  в цитозоль із позаклітинного простору залишається практично незмінним (і рівним за величиною ПБП) впродовж всього процесу, а початкова швидкість роботи PMCA в новому рівноважному стані (НРС) практично дорівнює початковій швидкості у ВБС: це дозволяє розраховувати нове значення  $V_{mPM}$  або  $K_{mPM}$  за величиною концентрації  $Ca^{2+}$  в цитозолі в НРС.

**Ключові слова:** кальцієвий гомеостаз, кальцієва помпа, плазматична мембрана, трансмембранне перенесення кальцію, математична модель, гранична швидкість, константа Міхаеліса, внутрішньоклітинний кальцій.

#### MATHEMATICAL MODELING OF CALCIUM HOMEOSTASIS IN SMOOTH MUSCLE CELLS WHILE ACTIVITY OF PLASMA MEMBRANE CALCIUM PUMP IS MODULATED

S. O. Karakhim, V. F. Gorchev, P. F. Zhuk,  
S. O. Kosterin

Palladin Institute of Biochemistry, National  
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: laserlab@biochem.kiev.  
ua; kinet@biochem.kiev.ua

A mathematical model of intracellular calcium homeostasis in smooth muscle cells has been investigated by computer modelling method. The

results of calculations showed that for the plasma membrane calcium pump (PMCA) the limiting rate ( $V_{mPM}$ ) increasing or the Michaelis constant ( $K_{mPM}$ ) decreasing result in a lowering of the  $Ca^{2+}$  concentration in cytosol and sarcoplasmic reticulum (SR); the slight  $V_{mPM}$  decreasing or  $K_{mPM}$  increasing result in fluent cytosolic  $Ca^{2+}$  strengthening due to slow basal influx (SBI) since a massive release of  $Ca^{2+}$  from SR does not occur. The further  $V_{mPM}$  decreasing or  $K_{mPM}$  increasing stimulate the  $Ca^{2+}$ -induced  $Ca^{2+}$  release from SR and the system passes into oscillation mode; when the certain low  $V_{mPM}$  or high  $K_{mPM}$  level is reached the oscillations of  $Ca^{2+}$  concentration in cytosol are stopped, there is only first oscillation after which a new level of cytosolic  $Ca^{2+}$  concentration is formed fluently: this level is higher than in the initial basal condition (IBC). Sensitivity of myocytes with the lowering of  $V_{mPM}$  or increasing  $K_{mPM}$  to agonist action is rising but sensitivity of myocytes with increasing  $V_{mPM}$  or decreasing  $K_{mPM}$  to agonist action is reducing. If the PMCA parameters ( $V_{mPM}$  or  $K_{mPM}$ ) are changed then passive influx of  $Ca^{2+}$  in cytosol from extracellular space remains virtually invariable and it is equal to SBI value during the whole process. Initial rate of PMCA in a new equilibrium condition (NEC) is equal virtually to initial rate in IBC: it allows to calculate a new value  $V_{mPM}$  or  $K_{mPM}$  from cytosolic  $Ca^{2+}$  concentration in NEC.

**Key words:** calcium homeostasis, calcium pump, plasma membrane, transmembrane calcium transport, mathematical model, limiting rate, Michaelis constant, intracellular calcium.

1. Костерин С. А. Транспорт кальция в гладких мышцах. — К.: Наукова думка, 1990. — 216 с.
2. Horowitz A., Menice C. B., Laporte R., Morgan K. G. // *Physiol. Rev.* — 1996. — **76**, N 4. — P. 967–1003.
3. Floyd R., Wray S. // *Cell Calcium.* — 2007. — **42**. — P. 467–476.
4. Shannon T. R., Fei Wang, Puglisi J. et al. // *Biophys. J.* — 2004. — **87**. — P. 3351–3371.
5. Лабинцева Р. Д., Слінченко Н. М., Векліч Т. О. та ін. // *Укр. біохім. журн.* — 2007. — **79**, № 3. — С. 44–54.
6. Шликов С. Г., Бабіч Л. Г., Слінченко Н. М. та ін. // *Укр. біохім. журн.* — 2007. — **79**, № 4. — С. 28–33.
7. Векліч Т. О., Шкрабак О. А., Родік Р. В. та ін. // *Укр. біохім. журн.* — 2011. — **83**, № 2. — С. 36–44.
8. Laporte R., Hui A., Laher I. // *Pharmacol. Rev.* — 2004. — **56**, N 4. — P. 439–513.

9. Nelson M. T., Patlak J. B., Worley J. F., Standen N. B. // *Am. J. Physiol.* – 1990. – **259**. – P. C3–C1.
10. Burdyga Th., Wray S., Noble K. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2007. – **1101**. – P. 85–96.
11. Sobie E. A., Dilly K. W., Cruz J. S. et al. // *Biophys. J.* – 2002. – **83**. – P. 59–78.
12. Костерін С. О., Мірошніченко М. С., Прилуцький Ю. І. та ін. // *Укр. біохім. журн.* – 2002. – **74**, № 2. – С. 128–133.
13. Parekh A. B., Putney J. W. Jr. // *Physiol. Rev.* – 2005. – **85**. – P. 757–810.
14. Bursztyn L., Eytan O., Jaffa A. J., Elad D. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2007. – **1101**. – P. 110–138.
15. Wiesner Th. F., Berk B. C., Nerem R. M. // *Am. J. Physiol.* – 1996. – **270**. – P. C1556–C1569.
16. Zucchi R., Ronca F., Ronca-Testoni S. // *Pharmacol. Ther.* – 2001. – **89**. – P. 47–65.
17. Ji G., Feldman M., Doran R. et al. // *J. Gen. Physiol.* – 2006. – **127**, N 3. – P. 225–235
18. Fill M., Copello J. A. // *Physiol. Rev.* – 2002. – **82**. – P. 893–922.
19. Тугай В. А., Данилович Ю. В. // *Укр. біохім. журн.* – 2006. – **78**, № 2. – С. 37–51.
20. Jian Yao, Qin Li, Jin Chen, Shmuel Muallem // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, N 20. – P. 21511–21519.
21. Зинченко В. П., Долгачева Л. П. Внутриклеточная сигнализация. – Пушино: Электронное издательство “Аналитическая микроскопия”, 2003. [http://www.chronos.msu.ru/RREPORTS/Vnutrikletochnaja\\_Signalizacija.pdf](http://www.chronos.msu.ru/RREPORTS/Vnutrikletochnaja_Signalizacija.pdf)
22. Исследование процесса  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного выброса  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазматического ретикулула в гладкомышечной клетке методом математического моделирования / Жук П. Ф., Карахим С. А., Горчев В. Ф., Костерин С. А.; Ин-т информ.-диагност. систем Нац. авиац. ун-та. – Киев, 2010. – 55 с. – Библиогр.: 45 назв. – Рус. – Деп. в ГНТБ Украины 01.06.2010, №28-Ук2010.
23. Bird G. S., DeHaven W. I., Smyth J. T., Putney J. W. Jr. // *Methods.* – 2008. – **46**. – P. 204–212.
24. Venetucci L. A., Trafford A. W., O’Neill S. C., Eisner D. A. // *Cardiovascular Research.* – 2008. – **77**. – P. 285–292.
25. Borle A. B., Borle C. J., Dobransky P. et al. // *Am. J. Physiol.* – 1990. – **259**. – P. C19–C25.

Отримано 14.03.2013