

С.І. БРАЙЧЕНКО, О.М. ВАСИЛЬЄВ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
фізичний факультет, кафедра теоретичної фізики
(Вул. Володимирська 60, Київ 01601; e-mail: vasilev@univ.kiev.ua)

НЕЛІНІЙНА МОДЕЛЬ КАЛЬЦІЄВИХ ЗБУДЖЕНЬ В БІОМЕМБРАНАХ

УДК 577.3

Пропонується модель, яка описує процес перерозподілу кальцію в біологічних тканинах. В моделі враховано, що кальцій може знаходитись в зовнішньоклітинному або внутрішньоклітинному просторі. Перерозподіл кальцію відбувається за рахунок його переходу із внутрішньоклітинного простору у зовнішньоклітинний, і навпаки. Також у моделі враховано дифузю кальцію у зовнішньоклітинному просторі. Показано, що існує два режими функціонування такої системи. В першому режимі початкове збурення концентрації кальцію у зовнішньоклітинному просторі монотонно з часом зменшується до нульового значення. В другому режимі початкове збурення концентрації кальцію підсилюється (однак зрештою все одно повертається до нульового значення). Критичною характеристикою, яка визначає режим функціонування системи, є концентрація кальцію у внутрішньоклітинному просторі.

Ключові слова: кальцій, спарк, біомембрана, дифузія.

1. Вступ

Навіть найпростіші біологічні системи є складними для дослідження і, відповідно, моделювання таких систем та процесів, що в них відбуваються, вимагає значних зусиль. Як правило, успіху вдається досягти на основі виділення найбільш загальних властивостей і зв'язків. Це евристична задача, котра вимагає глибокого розуміння законів і принципів функціонування біологічних об'єктів. Так, при вивченні різноманітних систем, що складаються з біомембран, досить часто доводиться мати справу із кальцієвими потоками [1–3]. Кальцій відіграє значну роль в багатьох фізіологічних процесах і є регулятором, який відповідає за важливі функції складних організмів. Гарним прикладом може бути процес перерозподілу іонів кальцію у зовнішньоклітинному просторі при скороченні м'язових клітин серця (див., наприклад, [4] та посилання, що містяться там). Розглянемо на загальному рівні основні етапи цього процесу.

Відомо, що кардіоміоцит (м'язова клітина серця) містить ретикулум, що є контейнером чи резервуаром для зберігання іонів кальцію. Це кальцій, який знаходиться у внутрішньоклітинному просторі. Він може переходити у зовнішньоклітинний простір і повертатись назад. Такий перехід вико-

нується завдяки роботі спеціальних кальцієвих каналів, які активуються за наявності потенціалу дії. Особливість ситуації в тому, що вивільнення іонів кальцію із внутрішньоклітинного у зовнішньоклітинний простір створює додатковий потенціал, а це стимулює роботу кальцієвих каналів, що має наслідком додаткове вивільнення кальцію. Отже, в даному випадку існує позитивний зворотний зв'язок. Тут також слід врахувати, що процес є нелокальним за рахунок дифузії кальцію у зовнішньоклітинному просторі [4–9].

Елементарними подіями сигналізації є *спарки* – спонтанні вивільнення кальцію у зовнішньоклітинний простір. Добре відомим є той факт, що спарки можуть утворювати кластери або породжувати кальцієві хвилі [4, 10]. Однак експериментальні дані і теоретичні розрахунки дають підстави стверджувати, що поява кальцієвих хвиль не може бути пояснена випадковим вивільненням кальцію у зовнішньоклітинний простір (див., наприклад, [4] та посилання, що містяться там). І хоча існує значний пул досліджень різного типу, які пояснюють чи описують механізми перерозподілу іонів кальцію у внутрішньоклітинному і зовнішньоклітинному просторі, залишається актуальною задача щодо створення моделі, простої і якісної, яка би пояснювала процес підсилення початкових кальцієвих збуджень у зовнішньоклітинно-

му просторі. Розв'язанню цієї проблеми присвячена дана стаття.

2. Досліджувана система

Для побудови математичної моделі ми максимально спростимо ситуацію, не втрачаючи при цьому ключових моментів. Базові положення такі:

- Вважаємо, що кальцій (мається на увазі іони кальцію) може знаходитись у одному з двох станів. По-перше, кальцій акумулюється в спеціальних везикулах (куплонах) всередині клітин (внутрішньоклітинний простір). По-друге, кальцій може знаходитись у вільному стані у зовнішньоклітинному просторі.

- Кальцій із внутрішньоклітинного простору може переходити у зовнішньоклітинний простір, і навпаки.

- Наявність кальцію у зовнішньоклітинному просторі є стимулом для більш інтенсивного вивільнення кальцію із внутрішньоклітинного простору.

- Утворюється позитивний зворотний зв'язок: процес вивільнення кальцію із внутрішньоклітинного простору в зовнішньоклітинний самопідсилюється, однак при цьому запаси кальцію у внутрішньоклітинному просторі зменшуються, тому цей процес є скінченим у часі.

Далі пропонується нескладна математична модель, котра дозволяє проаналізувати процес перерозподілу кальцію у зовнішньоклітинному і внутрішньоклітинному просторі. Зокрема, ми розглянемо площину, яка розділяє внутрішньоклітинний і зовнішньоклітинний простір. Нас буде цікавити розподіл кальцію з обох боків площини – тобто у зовнішньоклітинному та внутрішньоклітинному просторі. При цьому всю систему будемо розглядати як одновимірну в тому сенсі, що просторова залежність концентрації кальцію може змінюватись вздовж певної осі x вздовж площини. В інших просторових напрямках концентрацію кальцію вважатимемо незмінною. Таке припущення, з одного боку, дозволить суттєво спростити аналіз, а з іншого боку, воно не видається занадто нереалістичним.

Позначимо через $u(t, x)$ концентрацію кальцію у зовнішньоклітинному просторі, а через $v(t, x)$ позначимо концентрацію кальцію у внутрішньоклітинному просторі. Обидві концентрації розглядаємо як функції часу t та просторової координати

x . Динаміку концентрації кальцію у зовнішньоклітинному та внутрішньоклітинному просторі в загальному випадку можна описати такою системою диференціальних рівнянь у частинних похідних:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D_u \Delta u + k_1 uv - k_2 u, \quad (1)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = D_v \Delta v - k_1 uv + k_2 u. \quad (2)$$

В цих рівняннях через Δ позначено оператор Лапласа, через D_u та D_v позначені коефіцієнти дифузії відповідно у зовнішньоклітинному та внутрішньоклітинному просторі, а k_1 та k_2 є феноменологічними параметрами моделі. В рівняннях (1) та (2) перший доданок описує дифузійні процеси (рух кальцію вздовж осі x). Доданок $k_1 uv$ описує потік кальцію із внутрішньоклітинного простору у зовнішньоклітинний простір. Тут ми врахували, що інтенсивність такого потоку, з одного боку, має залежати від концентрації кальцію у внутрішньоклітинному просторі (джерело кальцію), а з іншого боку, інтенсивність вивільнення кальцію у зовнішньоклітинний простір зростає зі зростанням концентрації уже вивільненого кальцію. Доданок $k_2 u$ описує потік кальцію із зовнішньоклітинного простору у внутрішньоклітинний. Ми виходимо із припущення, що такий потік пропорційний до концентрації кальцію у зовнішньоклітинному просторі.

Для подальшого аналізу виконаємо безрозмірення. Робимо такі заміни: $u \rightarrow u_0 u$, $v \rightarrow v_0 v$, $t \rightarrow t_0 t$ та $x \rightarrow Lx$. Тут через L позначено характерний розмір системи (такий, що просторова координата $0 \leq x \leq L$, і після безрозмірення $0 \leq x \leq 1$), а параметри $u_0 = v_0 = k_2/k_1$ та $t_0 = 1/k_2$. Також ми скористаємося наявними експериментальними даними, які свідчать про те, що рухливість кальцію у внутрішньоклітинному просторі суттєво обмежена, та покладемо $D_v = 0$. В такому випадку отримаємо таку систему рівнянь, яка визначає динаміку кальцію (в частині перерозподілу між зовнішньоклітинним та внутрішньоклітинним простором):

$$\frac{\partial u}{\partial t} = a^2 \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + uv - u, \quad (3)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} = u - uv, \quad (4)$$

де уведено параметр

$$a^2 = \frac{D_u}{k_2 L^2}.$$

Ця система рівнянь може бути зведена до одного інтегро-диференціального рівняння

$$\frac{\partial u}{\partial t} = a^2 \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \varepsilon u \exp\left(-\int_0^t u(\tau) d\tau\right), \quad (5)$$

в якому функція $\varepsilon(x)$ пов'язана із початковим розподілом кальцію у внутрішньоклітинному просторі співвідношенням $\varepsilon(x) = v(t = 0, x) - 1$. Для розв'язання рівняння (5) також необхідно знати початковий розподіл кальцію у зовнішньоклітинному просторі $u(t = 0, x) = \varphi(x)$ і межові умови для функції $u(t, x)$ при $x = 0$ та $x = 1$. Що стосується останніх, то ми припускаємо, що на межі системи кальцій у зовнішньоклітинний простір переходити не може, тому умови беремо нульові:

$$u(t, x = 0) = u(t, x = 1) = 0. \quad (6)$$

Також ми будемо вважати, що функція ε не залежить від просторової координати x , а отже, є константою. Однак зрозуміло, що навіть в такій спрощеній постановці задача не є тривіальною і має розв'язуватись у числовому вигляді. Та спочатку розглянемо деякі часткові випадки.

3. Аналіз граничних випадків

Один з найбільш простих випадків реалізується за умови, коли дифузія кальцію у зовнішньоклітинному просторі відсутня. Це означає, що маємо покласти $a = 0$. В такому разі отримуємо звичайне диференціальне рівняння, яке визначає динаміку концентрації кальцію у зовнішньоклітинному просторі:

$$\frac{du}{dt} = u(t)(C - 1 - u(t)), \quad (7)$$

де через C позначено сумарну, не змінювану з часом, концентрацію кальцію у внутрішньоклітинному і зовнішньоклітинному просторі:

$$u(t) + v(t) = C. \quad (8)$$

Тут за умови $C > 1$ ми маємо стійкий стаціонарний розв'язок

$$u(t) \equiv C - 1, \quad (9)$$

$$v(t) \equiv 1. \quad (10)$$

а якщо $C < 1$, то стійким є розв'язок

$$u(t) \equiv 0, \quad (11)$$

$$v(t) \equiv C. \quad (12)$$

В даному випадку досить легко отримати точні аналітичні розв'язки для залежностей $u(t)$ та $v(t)$, однак вони є тривіальними і особливого інтересу не викликають. Основний наслідок, який можна отримати на їх основі та на основі аналізу стійкості стаціонарних розв'язків, полягає в такому: якщо в початковий момент концентрація кальцію у зовнішньоклітинному просторі відрізняється від стаціонарного значення, то з часом кальцій перерозподіляється так, що реалізується стійкий стаціонарний розв'язок. Для функції $u(t)$, котра описує концентрацію кальцію в зовнішньоклітинному просторі, стаціонарний розв'язок є нульовим за умови $C < 1$, і розв'язок відмінний від нуля за умови $C > 1$. Отже, існує критичне значення для сумарної концентрації кальцію, і якщо фактична кількість кальцію менша за це значення, то в зовнішньоклітинному просторі кальцій відсутній. У певному сенсі цей результат є важливим, однак як буде показано далі, наявність дифузії кальцію у зовнішньоклітинному просторі робить ситуацію ще більш цікавою.

На наступному етапі ми врахуємо дифузію кальцію у зовнішньоклітинному просторі. Також будемо вважати, що параметр $\varepsilon > 0$ та не залежить від просторової координати. Ще одне припущення буде полягати у тому, що розв'язок $u(t, x)$ є малим. Останнє не видається надуманим, оскільки за нульової початкової умови для функції $u(t, x)$, з урахуванням рівняння (5) та граничних умов (6), маємо для функції $u(t, x)$ нульовий розв'язок. Логічно припустити, що коли початковий розподіл кальцію у зовнішньоклітинному просторі є незначним, то існує можливість для того, аби ця концентрація залишалась малою. Якщо так, то замінивши у виразі (5) експоненту на одиницю

$$\exp\left(-\int_0^t u(\tau) d\tau\right) \approx 1,$$

отримуємо таке:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = a^2 \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \varepsilon u. \quad (13)$$

Це рівняння має аналітичний розв'язок у вигляді нескінченного ряду

$$u(t, x) = \sum_{n=1}^{\infty} U_n \exp(-\lambda_n t) \sin(\pi n x), \quad (14)$$

де коефіцієнти розкладу U_n визначаються на основі початкової умови $u(t = 0, x) = \varphi(x)$ згідно із співвідношенням

$$U_n = 2 \int_0^1 \varphi(x) \sin(\pi n x) dx, \quad (15)$$

а параметри

$$\lambda_n = (\pi n a)^2 - \varepsilon. \quad (16)$$

Неважко збагнути, що за умови

$$\varepsilon > (\pi a)^2 \quad (17)$$

розв'язок (14) містить доданки, які зростають експоненційно з часом. Фактично це означає, що вихідне припущення про те, що концентрація кальцію у зовнішньоклітинному просторі залишається незначною, є хибним. Отже, можемо стверджувати, що існує критичне значення для параметра $\varepsilon = (\pi a)^2$, при перевищенні якого початкові незначні відхилення концентрації кальцію в зовнішньоклітинному просторі від рівноважного значення будуть підсилюватися. При цьому нескінченно зростання концентрації кальцію у зовнішньоклітинному просторі не буде, оскільки згідно із співвідношенням (5) зростання значення $u(t, x)$ приведе до зростання значення інтеграла в експоненті і, таким чином, доданок, що викликає підсилення початкового збурення, буде зменшуватись. Тобто тут має місце негативний зворотний зв'язок. Щоб дати більш детальний опис особливостей перерозподілу кальцію маємо розв'язати (в числовому вигляді) вихідну систему диференціальних рівнянь в частинних похідних (1) та (2).

4. Режим підсилення кальцієвого збудження

Наведені вище попередні результати (отримані на якісному рівні) дають підстави очікувати, що за наявності початкового кальцієвого збудження (введення у зовнішньоклітинний простір додаткової

порції кальцію) можливі два сценарії подальшого перерозподілу кальцію в системі:

- Кальцієвий спарк монотонно загасає.
- Кальцієвий спарк підсилюється (із подальшим загасанням).

В рамках вивчення процесу перерозподілу кальцію змодельовано реакцію системи на початкове збурення для концентрації кальцію в зовнішньоклітинному просторі такого типу:

$$\varphi(x) = A \exp(-\alpha(x - 0,5)^2), \quad (18)$$

тобто йдеться про розподіл гаусівського типу по центру системи (і це відповідає сучасним уявленням про стохастичне вивільнення кальцію в зовнішньоклітинний простір). Якщо початковий розподіл кальцію в зовнішньоклітинному просторі відомий (задана функція $\varphi(x)$), то ми можемо оцінити значення похідної за часом від функції $u(t, x)$ в початковий момент:

$$\left. \frac{\partial u(t, x)}{\partial t} \right|_{t=0} = a^2 \varphi(x)'' + \varepsilon \varphi(x). \quad (19)$$

Якщо початковий розподіл $\varphi(x)$ визначається співвідношенням (18), то отримаємо

$$\left. \frac{\partial u(t, x)}{\partial t} \right|_{t=0} = \varphi(x) (\varepsilon + \alpha a^2 (\alpha (2x - 1)^2 - 1)). \quad (20)$$

Очевидно, що аби початкове збурення підсилювалось, достатньо (але не необхідно), аби у певній просторовій області виконувалась умова $\left. \frac{\partial u(t, x)}{\partial t} \right|_{t=0} > 0$. Очевидно, що зазначена умова еквівалентна такому:

$$\varepsilon + \alpha a^2 (\alpha (2x - 1)^2 - 1) > 0. \quad (21)$$

Вираз в лівій частині нерівності приймає мінімальне значення при $x = 0,5$ (центр системи). Для значення $x = 0,5$ умова трансформується до виразу

$$\varepsilon > \alpha a^2. \quad (22)$$

Однак навіть якщо дана умова не виконується, це не означає, що підсилення початкового збурення не буде: концентрація кальцію спочатку може спадати, а після цього почнеться фаза зростання концентрації кальцію у зовнішньоклітинному просторі. Дане твердження підкріплюється результатами числового моделювання. Для отримання числових розв'язків використовувався стандартний

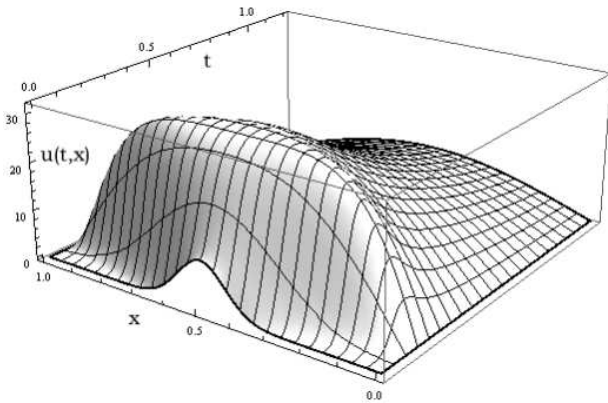


Рис. 1. Залежність $u(t, x)$ при значеннях параметрів $a = 0,4$, $\alpha = 100$, $A = 10$ та $\varepsilon = 33,6$

метод ліній, який базується на дискретизації вихідних рівнянь по просторовій змінній. В результаті вихідна задача зводиться до розв'язання системи звичайних диференціальних рівнянь.

Для отримання розв'язків системи рівнянь (1) та (2) в числовому вигляді використовуємо такі значення для параметрів системи: $a = 0,4$, $\alpha = 100$ та $A = 10$. Якщо так, то критичне значення параметра ε , розраховане згідно із співвідношенням (17), становить величину 1,56. Значення αa^2 в правій частині нерівності (22) дорівнює 16. На рис. 1 наведено залежність $u(t, x)$ при значенні параметра $\varepsilon = 33,6$.

Цілоком очікувано, що в цьому випадку має місце підсилення початкового збудження, пов'язаного із наявністю кальцію в зовнішньоклітинному просторі. Однак з часом це збудження загасає, як і передбачалося.

Подібна ситуація має місце і у випадку, наведеному на рис. 2. Там показано залежність $u(t, x)$, розраховану при значенні параметра $\varepsilon = 11,2$. Особливість цієї ситуації у тому, що початкове збудження спочатку зменшується, і тільки після цього починається етап підсилення. Врешті концентрація кальцію у зовнішньоклітинному просторі повертається до нульового значення.

При зменшенні значення параметра ε максимальна амплітуда для профілю концентрації кальцію у зовнішньоклітинному просторі зменшується. На рис. 3 наведено залежність $u(t, x)$ при значенні параметра $\varepsilon = 4,8$. Тепер підсилення початкового збудження як такого немає. За подальшого зменшення параметра ε для часової залежності концен-

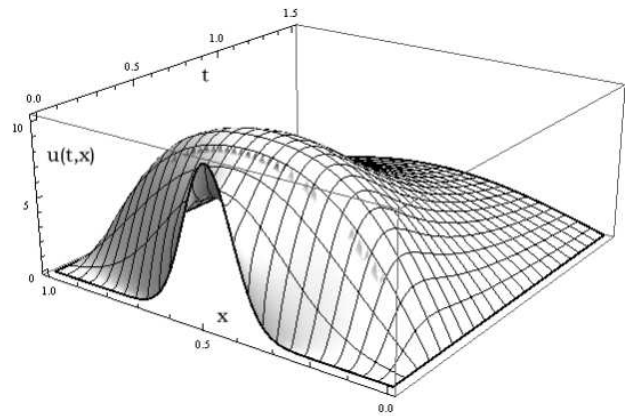


Рис. 2. Залежність $u(t, x)$ при значеннях параметрів $a = 0,4$, $\alpha = 100$, $A = 10$ та $\varepsilon = 11,2$

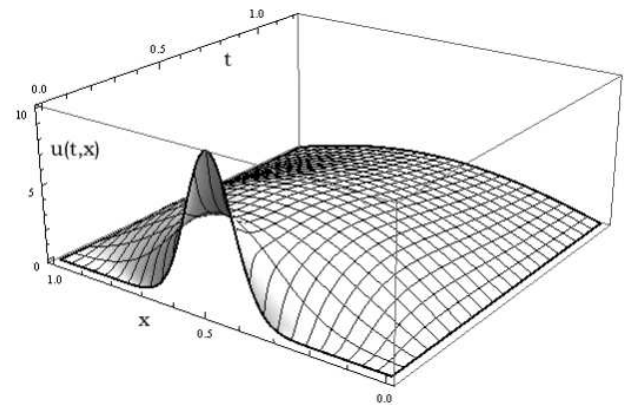


Рис. 3. Залежність $u(t, x)$ при значеннях параметрів $a = 0,4$, $\alpha = 100$, $A = 10$ та $\varepsilon = 4,8$

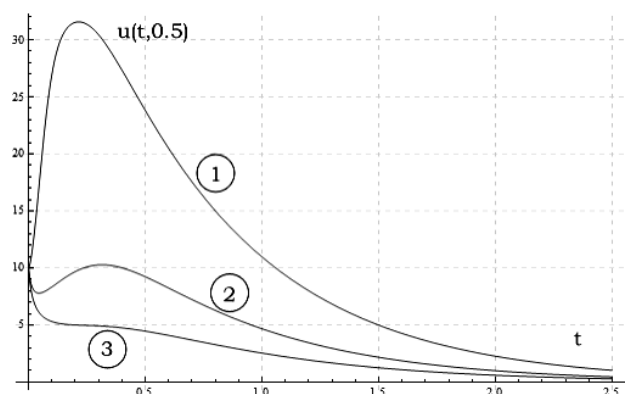


Рис. 4. Залежність $u(t, x = 0,5)$ при різних значеннях параметра ε . Цифрами позначено графіки: 1 – для $\varepsilon = 33,6$, 2 – для $\varepsilon = 11,2$, 3 – для $\varepsilon = 4,8$

трації кальцію отримуємо монотонну спадаючу залежність. Більш чітке уявлення про зміни в процесі перерозподілу кальцію дає рис. 4, на якому наведено часові профілі концентрації кальцію в центрі системи (при $x = 0,5$) для трьох розглянутих вище випадків. Як і зазначалося раніше, концентрація кальцію в зовнішньоклітинному просторі в кінцевому випадку зменшується до нуля. Однак при цьому може мати місце тимчасове збільшення концентрації кальцію у зовнішньоклітинному просторі.

5. Висновки

Таким чином, запропонована модель описує процес перерозподілу кальцію у зовнішньоклітинному просторі. В моделі враховано дифузію кальцію в зовнішньоклітинному просторі та нелінійний механізм, який зумовлює перехід кальцію із внутрішньоклітинного простору у зовнішньоклітинний. Найбільш важливим результатом теоретичного аналізу та числових розрахунків є те, що в досліджуваній системі незначне випадкове вивільнення кальцію у зовнішньоклітинний простір може підсилюватися. Відповідний режим реалізується, якщо концентрація кальцію у внутрішньоклітинному просторі перевищує певне граничне значення. Даний висновок добре узгоджується з результатами інших досліджень (див., наприклад, [4]) і може бути важливим для поясненні процесів, пов'язаних з утворенням кальцієвих кластерів та генерування кальцієвих хвиль.

1. D.M. Bers. Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature* **415**, 198 (2002).
2. M.J. Berridge, P. Lipp, M.D. Bootman. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biology* **1**, 11 (2000).
3. M.J. Berridge, M.D. Bootman, P. Lipp. Calcium – a life and death signal. *Nature* **395**, 645 (1998).

4. D.M. Bers. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Ann. Rev. Physiol.* **70**, 23 (2008).
5. C.J. Fearnley, H.L. Roderick, M.D. Bootman. Calcium signaling in cardiac myocytes. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **3**, a004242 (2011).
6. G. Williams, A. Chikando, H. Tuan, E. Sobie, W. Lederer, M. Jafri. Dynamics of calcium sparks and calcium leak in the heart. *Biophys. J.* **101**, 1287 (2011).
7. M. Nivala, C.Y. Ko, M. Nivala, J.N. Weiss, Z. Qu. Criticality in intracellular calcium signaling in cardiac myocytes. *Biophys. J.* **102**, 2433 (2012).
8. B.D. Stuyvers, P.A. Boyden, H.J. ter Keurs. Calcium waves: Physiological relevance in cardiac function. *Circulation Research* **86**, 1016 (2000).
9. A.A. Kort, M.C. Capogrossi, E.G. Lakatta. Frequency, amplitude, and propagation velocity of spontaneous Ca^{++} -dependent contractile waves in intact rat cardiac muscle and isolated myocytes. *Circulation Research* **57**, 844 (1985).
10. H. Cheng, W.J. Lederer, M.B. Cannell. Calcium sparks: elementary events underlying excitation-contraction coupling in heart muscle. *Science* **262**, 740 (1993).

Одержано 28.02.18

S.I. Braichenko, A.N. Vasilev

NONLINEAR MODEL OF CALCIUM EXCITATIONS IN BIOMEMBRANES

S u m m a r y

A model is proposed to describe the calcium redistribution in biological substances. The model takes into consideration that calcium can be located inside or outside a cell. Calcium is redistributed due to its transport from the cell volume into the outer space and backward. The model makes allowance for the calcium diffusion into the outer space. It is shown that there are two modes of functioning of the system. In one of them, the initial perturbation of the calcium concentration in the extracellular space monotonically vanishes in time. In the other mode, this perturbation first grows, but afterward decreases to the zero value. The calcium concentration in the intracellular space is shown to be a critical parameter that governs the system operation mode.