



О.Э. Соловьева, А.Д. Васильева,
Л.Б. Кацнельсон, А.Г. Курсанов,
Т.Б. Сульман, В.С. Мархасин

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЖИВЫХ СИСТЕМ

Учебный электронный текстовый ресурс

Учебно-методическое пособие

Екатеринбург

2012

Соловьева О.Э., Васильева А.Д., Кацнельсон Л.Б., Курсанов А.Г., Сульман Т.Б., Мархасин В.С. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЖИВЫХ СИСТЕМ. Учебный электронный текстовый ресурс. Учебно-методическое пособие. УрФУ. Екатеринбург. 2012. 320 с.

Учебно-методическое пособие «МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЖИВЫХ СИСТЕМ» содержит развернутое, иллюстрированное изложение теоретического материала курса. Предназначено для аудиторных занятий, самостоятельной работы студентов и подготовки к выполнению практических и лабораторных заданий.

Ресурс подготовлен сотрудниками кафедры вычислительной математики ИМКН, кафедры экспериментальной физики ФТИ, кафедры прикладной математики УралЭНИН.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
1 МЕТОДЫ СИСТЕМНОЙ БИОЛОГИИ	14
1.1 Методы моделирования биологических процессов и систем .	14
1.2 Методы качественного исследования системы дифференциальных уравнений	32
2 СКАЛЯРНЫЕ МОДЕЛИ ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ	47
2.1 Непрерывные модели динамики популяций	47
2.2 Дискретные модели популяционной динамики	61
3 КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ	68
3.1 Моделирование биохимических реакций. Ферментативная кинетика	68
3.2 Нелинейные эффекты в ферментативной кинетике	91
4 ТРИГГЕРНЫЕ СИСТЕМЫ В БИОЛОГИИ	109
4.1 Биохимический триггер	109
4.2 Немного о бифуркации	117
4.3 Модель генетического триггера	122
4.4 Модель конкурирующих видов. Пример популяционного триггера	133
5 АВТОКОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ	139
5.1 Взаимодействие видов типа хищник-жертва. Модель Лотки-Вольтерра	139
5.2 Модификация классической модели Вольтерра. Предельный цикл	147

5.3	Автоколебания в биохимических реакциях	157
6	МОДЕЛИ ТРАНСПОРТА ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОМЕМ-	
	БРАНЫ	163
6.1	Диффузия	163
6.2	Пассивный и активный транспорт	179
7	МОДЕЛИ ВОЗБУДИМЫХ СРЕД	202
7.1	Мембранный потенциал. Потенциал покоя	202
7.2	Модель мембраны как электрической цепи	210
7.3	Потенциал действия. Модель Ходжкина-Хаксли	222
8	МОДЕЛИРОВАНИЕ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ	242
8.1	Механизмы мышечного сокращения	242
8.2	Связь длина-сила мышцы. Закон Франка-Старлинга для сердца	252
8.3	Связь сила-скорость: модель Хилла	253
8.4	Мостиковая модель мышечного сокращения Хаксли	261
9	МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ СЕРДЕЧНОЙ МЫШ-	
	ЦЫ	272
9.1	Схема электромеханического сопряжения в сердечной клетке	274
9.2	Механо-электрическая обратная связь в миокарде	280
9.3	ЕО-модель электромеханического сопряжения в кардиомио- ците	284
9.4	Моделирование электрических и механических явлений в сердечной мышце в рамках ЕО-модели	296
О	РОЛИ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В ФИЗИО-	
	ЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ. ПЕРСПЕКТИВЫ	
	РАЗВИТИЯ: «ВИРТУАЛЬНЫЙ ЧЕЛОВЕК»	302
	ЛИТЕРАТУРА	309

ВВЕДЕНИЕ

Методы и инструменты математического моделирования и компьютерных наук играют решающую роль в развитии не только современных областей прикладной математики, но и теоретической биофизики, биологии и медицины, в том числе, молекулярной и клеточной биологии, системной биологии, физико-химической биологии, генной инженерии, биомедицинской инженерии, физиологии, фундаментальной медицины.

Курс «Математическое моделирование живых систем» относится к профессиональному циклу, входит в список профильных дисциплин ряда направлений нескольких институтов УрФУ, является принципиально мультидисциплинарным модулем, предполагающим получение знаний и умений, а также овладение методами и подходами из разных областей знания – математики, физики, биологии, компьютерных наук и информационных технологий.

Курс предназначен для начального знакомства с современными направлениями исследований в прикладной математике, биофизике, биомедицинской инженерии, биологии, использующими методы математического моделирования и биоинформатики, а также с некоторыми классическими примерами математических моделей биологических процессов, использующих аппарат нелинейных динамических систем, отражающих характерные особенности биологических процессов и демонстрирующих эффективность использования математических моделей для понимания механизмов функционирования биологических систем.

Учебно-методическое пособие «Математическое моделирование живых систем» разработано для студентов и магистрантов ИМКН (кафедра вычислительной математики, профили «Математическая биология и биоинформатика», «Математическое моделирование», дисциплины «Математическая биология», «Математическая физиология», «Математическое моделирование живых систем»), ФТИ (кафедра экспериментальной физики,

направление «Биотехнические системы и технологии», модуль «Математическое моделирование в медицине и биологии», дисциплина «Математическое моделирование биологических процессов и систем»), УралЭНИН (кафедра прикладной математики, направление «Прикладная математика», дисциплина «Математическое моделирование живых систем»), а также студентов различных направлений ИЕН (кафедра физиологии человека и животных, кафедра теоретической физики и др.).

Учебно-методическое пособие «Математическое моделирование живых систем» предназначено для самостоятельной работы студентов над лекционным материалом и подготовки к выполнению практических заданий.

В результате освоения материала студенты должны:

1. Знать:

- различные и вместе с тем наиболее часто используемые приемы моделирования сложных биологических систем
- методы качественного анализа динамических систем на примерах рассматриваемых математических моделей (скалярных ОДУ или систем 2-х ОДУ) – анализ стационарных состояний, периодических решений;
- вычислительные алгоритмы расчета моделей, анализ эффективности различных вычислительных схем, иллюстрация использования различных вычислительных схем в классических моделях с разными типами поведения биологических систем;
- типовые биологические процессы (транспорт веществ, химическая кинетика, типы взаимодействий в биологических системах и др.) и способы их математической формализации;
- классические модели в биологии и понимание значения математического и компьютерного моделирования для изучения природы биологических процессов и функционирования биологических систем;
- современное состояние математической биологии и биофизики, но-

вых направлений исследований в области математической биологии и биоинформатики, биоинженерии, интегративной биологии, системной биологии.

2. Владеть:

- навыками формализации и моделирования биологических процессов и систем;
- адекватными подходами и методами для моделирования живых систем в соответствии с поставленной задачей и набором моделируемых данных.

3. Уметь:

- планировать и провести теоретическое исследование и компьютерные эксперименты.
- анализировать результаты моделирования и формулировать гипотез для натурных экспериментов
- использовать методы компьютерного моделирования и современные информационные технологии для исследований биологических систем и моделирования в медицине.

Курс направлен на формирование мотивации к самостоятельным исследованиям в области математической биологии.

О дисциплине «Математическое моделирование живых систем»

В течение последних десятилетий наметился значительный прогресс в количественном (математическом) описании функций различных биосистем на различных уровнях организации жизни: молекулярном, клеточном, органном, организменном, популяционном, биогеоэкологическом (экосистемном). Жизнь определяется множеством различных характеристик этих биосистем и процессов, протекающих на соответствующих уровнях организации системы и интегрированных в единое целое в процессе

функционирования системы. О моделях, базирующихся на существенных постулатах о принципах функционирования системы, которые описывают и объясняют широкий круг явлений и выражают знание в компактной, формализованной форме, можно говорить как о теории биосистемы.

Построение математических моделей (теорий) биологических систем стало возможным благодаря исключительно интенсивной аналитической работе экспериментаторов: морфологов, биохимиков, физиологов, специалистов по молекулярной биологии и др. В результате этой работы кристаллизованы морфофункциональные схемы различных клеток, в рамках которых упорядоченно в пространстве и во времени протекают различные физико-химические и биохимические процессы, образующие весьма сложные переплетения.

Вторым, очень важным обстоятельством, способствующим привлечению математического аппарата в биологию, является тщательное экспериментальное определение констант скоростей многочисленных внутриклеточных реакций, определяющих функции клетки и соответствующей биосистемы. Без знания таких констант невозможно формально-математическое описание внутриклеточных процессов.

И, наконец, третьим условием, определившим успех математического моделирования в биологии, явилось развитие мощных вычислительных средств в виде персональных компьютеров и суперкомпьютеров и информационных технологий. Это связано с тем, что обычно процессы, контролируемые ту или иную функцию клеток или органов, многочисленны, охвачены петлями прямой и обратной связи и, следовательно, описываются сложными системами нелинейных уравнений с большим числом неизвестных. Такие уравнения не решаются аналитически, но могут быть решены численно при помощи компьютера.

Численные эксперименты на моделях, способные воспроизводить широкий класс явлений в клетках, органах и организме, позволяют оценить правильность предположений, сделанных при построении моделей. Заметим, что, хотя в качестве постулатов моделей используются эксперимен-

тальные факты, необходимость некоторых допущений и предположений является важным теоретическим компонентом моделирования. Эти допущения и предположения являются гипотезами, которые могут быть подвергнуты экспериментальной проверке. Таким образом, модели становятся источниками гипотез, и притом, экспериментально верифицируемых. Эксперимент, направленный на проверку данной гипотезы, может опровергнуть или подтвердить ее и тем самым способствовать уточнению модели. Такое взаимодействие моделирования и эксперимента происходит непрерывно, приводя ко все более глубокому и точному пониманию явления: эксперимент уточняет модель, новая модель выдвигает новые гипотезы, эксперимент уточняет новую модель и так далее.

В настоящее время область математического моделирования живых систем объединяет ряд различных и уже устоявшихся, традиционных, и более современных дисциплин, названия которых звучат достаточно общо, так что трудно бывает строго разграничить зоны их специфического использования. Это *биофизика* или *математическая биофизика*, изучающие физические основы биологических систем с использованием математического описания физических процессов; *математическая биология* или *теоретическая биология*, которые могут охватывать любые области моделирования живого, традиционно включают в себя популяционную динамику, моделирование экосистем, климата; *системная биология* традиционно обращается к моделям сложных внутриклеточных систем, включая протеомику (науку о белках), метаболомику (науку о метаболических процессах); *компьютерная биология* также адресуется к математическим моделям сложных биологических процессов и систем, реализуемым в компьютерных экспериментах, *биоинформатика* традиционно ассоциируется с моделированием в геномике.

В настоящее время особенно бурно развиваются специализированные области применения математического моделирования живых систем – *математическая физиология*, *математическая иммунология*, *математическая эпидемиология*, направленные на разработку математических тео-

рий и компьютерных моделей соответствующих систем и процессов.

Эти междисциплинарные исследования бесспорно являются приоритетными и в мировой, и в отечественной науке, объединяя усилия специалистов из различных областей знания – математиков, биологов, физиков, химиков и специалистов по компьютерным наукам.

Как всякая научная дисциплина, математическая (теоретическая) биология имеет свои предмет, способы, методы и процедуры исследования. В качестве предмета исследований возникают математические (компьютерные) модели биологических процессов, одновременно представляющие собой и объект исследования, и инструмент для исследования собственно биологических объектов. В связи с такой двоякой сущностью биоматематических моделей, они подразумевают использование имеющихся и разработку новых способов анализа математических систем (теорий и методов соответствующих разделов математики) с целью изучения свойств самой модели как математического объекта, а также использование модели для воспроизведения и анализа экспериментальных данных, получаемых в биологических экспериментах. При этом в качестве одного из наиболее важных назначений математических моделей (и теоретической биологии в целом) является возможность предсказания биологических явлений и сценариев поведения биосистемы в определенных условиях и их теоретического обоснования до (или даже вместо) проведения соответствующих биологических экспериментов.

Основным методом исследования и использования сложных моделей биологических систем является вычислительный компьютерный эксперимент, который требует применения адекватных методов вычислений для соответствующих математических систем, алгоритмов вычислений, технологий разработки и реализации компьютерных программ, хранения и обработки результатов компьютерного моделирования. Эти требования подразумевают разработку общих и специальных теорий, методов, алгоритмов и технологий компьютерного моделирования в рамках различных направлений математической биологии, что само по себе является составной частью

этой научной дисциплины.

Наконец, в связи с основной целью использования биоматематических моделей для познания законов функционирования биологических систем, все стадии разработки и использования математических моделей предполагают обязательную опору на теорию и практику биологической науки, и в первую очередь на результаты натурных экспериментов.

Обзор содержания курса

В связи с огромным разнообразием современных исследований в области математической биологии и стремительным расширением областей применения математического моделирования в биологических исследованиях короткий курс не предполагает сколько-нибудь полного охвата всех существующих направлений математической биологии. Задача курса – это знакомство с рядом типовых биологических процессов (транспорт веществ, химическая кинетика, типы взаимодействий в биологических системах и др.) и способами их математической формализации; различными и вместе с тем наиболее часто используемыми приемами моделирования сложных биологических систем и методами анализа моделей, обсуждение применения различных вычислительных схем расчета моделей; знакомство с классическими моделями в биологии и демонстрация значения математического и компьютерного моделирования для понимания природы биологических процессов и функционирования биологических систем; знакомство с современным состоянием в области математического моделирования живых систем биологии, обсуждение новых направлений исследований в области математической биологии и биоинформатики, биоинженерии, интегративной биологии, системной биологии.

В рамках курса используются разнообразные демонстрационные материалы, относящихся к предметной области моделирования в биологии, поэтому компьютерные презентации сопровождают большинство лекций. Кроме этого, практические занятия и самостоятельная работа студентов предполагает использование интерактивных программ, обучающих работе

с моделями и демонстрирующих их возможности.

Программа курса включает несколько связанных друг с другом разделов, каждый из которых иллюстрирует важные особенности биологических систем, такие как интеграция процессов с существенно различными характерными масштабами величин и времен, мульти-стационарность систем и возможность переключения между различными стационарными состояниями, цикличность во времени, наличие прямых и обратных связей между величинами и др. При этом в рамках курса демонстрируется широкая возможность использования сходных математических формализмов для описания биологических процессов различной природы.

1. МЕТОДЫ СИСТЕМНОЙ БИОЛОГИИ

1.1. Методы моделирования биологических процессов и систем

1.1.1. Модель как динамическая система

При создании количественной модели любой системы или объекта требуется определить *состояние* объекта и предложить способ описания изменения этого состояния во времени.

Состояние объекта – это совокупность наиболее существенных количественных признаков – *переменных*, – характеризующих существование, поведение, эволюцию этого объекта или системы.

В биологических системах в качестве существенных переменных могут выступать различные измеряемые величины: в биохимии – это концентрации веществ, в микробиологии – число микроорганизмов или их биомасса, в экологии – численность вида, в биофизике мембранных процессов – мембранные потенциалы и т. д.

Изменение состояния системы во времени предполагает переходные процессы из одного стабильного состояния (например, *стационарного состояния*, т.е. неизменного во времени, или *периодического состояния*, т.е. циклически повторяющегося через определенные интервалы времени) в другое стабильное состояние. Такие переходы, как правило, бывают вызваны воздействием на систему, меняющим *параметры* системы или скачком меняющим само состояние системы.

Параметры системы – это постоянные (по крайней мере, достаточно длительное время) количественные характеристики условий протекания процессов в системе.

Например, внешними параметрами, определяющими существование клетки, могут быть температура, ионный состав внеклеточной среды. Внутренними параметрами динамики веществ в клетке могут быть характеристики молекулярных механизмов, обеспечивающих их движение или

преобразования, например, электрическая проводимость мембраны, плотность ионных насосов на мембране, максимальные скорости работы ионных обменников и др.

Динамическая система описывает изменение состояния объекта во времени, т.е. описывает процессы, сопровождающие смену состояния.

Традиционно термин «динамическая система» применялся к механическим системам, движение которых описывается дифференциальными уравнениями, а конкретная траектория определяется начальными условиями (положением, скоростями и т.п.). Сейчас понятие и теория динамических систем широко используется в различных прикладных областях, в частности, для описания биологических систем, где могут отсутствовать собственно механические переменные, а скорости движения заменяются скоростями изменения состояния.

В теории динамических систем состояние системы ассоциируется с *фазовой точкой* или *фазовым вектором* X , компонентами которого являются переменные $\{x_k, k = 1, \dots, n\}$, характеризующие состояние системы в данный момент времени (фаза – от греч. *phásis* появление, – определенный момент в ходе развития какого либо процесса). Динамическая система описывает изменение во времени состояния $X(t)$ в фазовом пространстве, т.е. пространстве всех допустимых значений элементов фазового вектора. Особенно наглядно эти представления работают в 2-мерной динамической системе (две переменные, характеризующие состояние), когда фазовым пространством является фазовая плоскость, или в 3-х мерном случае, когда фазовое пространство можно визуализировать в виде привычной 3-х мерной системы координат. Процесс изменения состояния во времени можно представить в виде движения фазовой точки по фазовой траектории, соответствующей заданным начальным условиям $X_0 = X(0)$ в начальный момент времени $t = 0$.

Закон связи между переменными и параметрами системы записывается в виде системы уравнений, в которых должно присутствовать время t , указывая на возможные изменения состояния системы.

При этом время может быть непрерывным $t \in [0, \infty)$ или дискретным $t \in \{0, t_1, t_2, \dots\}$. В дискретном случае фазовая траектория превращается в набор точек $\{X_0, X_1, X_2, \dots\}$ в фазовом пространстве и часто называется орбитой.

В непрерывном случае традиционным объектом теории динамических систем являются *обыкновенные дифференциальные уравнения* (ОДУ) [19], формализующие законы связи между скоростью изменения состояния (dX/dt) и самим текущим состоянием X :

$$dX/dt = F(t, X). \quad (1.1)$$

В правой части динамической системы (1.1) учитываются взаимные связи между компонентами фазового вектора и условия, при которых эта система функционирует, т.е. в уравнениях присутствуют *параметры* системы $\Lambda = \{\lambda_1, \dots, \lambda_m\}$.

Как правило, правая часть системы (1.1) явно не зависит от t (так что фазовые траектории не зависят от начального момента времени и определяются только начальной точкой в фазовом пространстве).

Такие системы называются *автономными системами* и записываются в виде:

$$dX/dt = F(X). \quad (1.2)$$

В дискретном случае динамическая система описывается *разностными уравнениями* и представляет собой закон связи между состоянием в последующий момент времени с состоянием в предыдущие моменты, например,

$$X_{n+1} = F(X_n). \quad (1.3)$$

Заметим, что при описании приведенных выше систем (1.1)-(1.3) термин «*пространство*» фигурировал только в связи с фазовым пространством, относящимся к совокупности признаков, характеризующих состояние системы. При этом реальное физическое пространство (например, привычное нам, объемное 3-х мерное пространство), в котором существует данная

система, исключалось из рассмотрения, как если бы все рассматриваемые процессы происходили в некоторой физической точке или точечной области, где значения рассматриваемых фазовых признаков одинаковы в любой части этой области.

Такое упрощение часто является вполне допустимым (позднее мы обсудим возможность таких допущений) и соответствующие системы называются *точечными* или *сосредоточенными*.

Это допущение не работает, когда распределение наблюдаемых величин (например, концентраций веществ или других количественных характеристик процессов) в пространстве существенно неоднородно. Причиной этого может быть, например, достаточно медленный (в сравнении с характерными временами изменения величины во времени) транспорт веществ или медленное распространение сигнала между различными пространственными участками рассматриваемого объема. Такие системы называются *распределенными*. В этом случае состояние системы зависит от ее пространственной координаты, т.е. описывается величиной $X(t, r)$, где r – вектор, описывающий пространственное положение X . Например, в 3-х мерном пространстве $X(t, r) = \{X_{(i)}(t), X_{(j)}(t), X_{(k)}(t)\}$, где $X_{(.)}(t)$ – проекция фазового вектора на соответствующую координатную ось. Математическое описание и дальнейший анализ распределенных систем значительно сложнее, чем сосредоточенных. Здесь на замену ОДУ приходят системы уравнений в частных производных, в которых кроме производной по времени (т.е. скорости изменения состояния во времени) фигурируют производные по пространственным координатам (т.е. скорости изменения состояния в пространстве). Пример распределенной модели мы приведем в разделе 6, посвященном моделированию диффузии.

Сложность биологических систем заключается в том, что они представляют собой:

1. *открытые* системы, т.е. непрерывно взаимодействуют с внешней средой, в форме обмена энергией, веществом, информацией;

2. *неравновесные* системы, т.е. функционируют вдали от термодинамического равновесия и, следовательно, требуют энергетических затрат для поддержания существования;
3. *мульти-шкальные системы* (multi-scale system), т.е. объединяют воедино процессы различной физической природы (электричество, механика, магнетизм, химия, оптика и др.) с беспрецедентным для неживой природы диапазоном характерных пространственных масштабов величин и временных масштабов процессов, обуславливающих существование системы.

Например, в организме человека интегрируются процессы, происходящие на разных уровнях организации системы: молекулярном *нано*-уровне с характерными временами порядка *фемто*- (10^{-15}) секунд и пространственными размерами порядка *нано*- (10^{-9}) метров, клеточном *микро*- или *мезо*-уровне (*микро*- (10^{-6}) метры и *микро*- или *милли*- (10^{-3}) секунды), тканевом и органном *макро*-уровнях (пространственные размеры от миллиметров до метров, и временные характеристики от миллисекунд до дней (10^5 секунд) и десятков лет (10^8 секунд)).

Поэтому невозможно представить себе универсальную модель биологической системы. Такая гипотетическая модель соответствовала бы высказыванию основоположника кибернетики Норберта Винера: «Лучшей моделью кошки является другая, а желательно, та же самая кошка». Ее, скорее всего, было бы ничуть не прощу изучать, чем исходный объект. Поэтому построение модели должно отвечать на конкретные вопросы исследователя и математические инструменты для моделирования должны зависеть от конкретной решаемой задачи.

Естественно, что при указанной сложности биологических систем и соответствующих математических моделей основным инструментом их анализа является вычислительный эксперимент. В рамках данного курса мы будем рассматривать классические модели математической биологии, представляющие собой, в основном, сосредоточенные системы малой размерности.

Для этих моделей существенным этапом анализа является качественный анализ динамической системы, о котором пойдет речь в следующих секциях этой главы.

1.1.2. Пример: модель динамики состояния ионных каналов

Ионные каналы – это сложные белковые молекулы, расположенные в мембране клетки, через которые осуществляется транспорт ионов в клетку или из нее (более подробно об ионном транспорте смотри в разделе 6).

С функциональной точки зрения важно, что канал может находиться в различных конформационных состояниях – открытом или закрытом, пропускающим или нет прохождение ионов через мембрану. Понятно, что величина ионного тока должна быть пропорциональна средней по клетке доле открытых каналов в их общем числе. Обозначим эту величину $n \in [0, 1]$ и попробуем выписать модель, описывающую ее динамику во времени.

Наиболее простая схема переходов одиночного канала из закрытого в открытое состояние может быть следующей:



Здесь C (closed) – закрытое состояние канала, O (open) – открытое состояние канала, k_+ и k_- константы скоростей переходов, показывающие сколько в единицу времени в среднем происходит переходов из закрытого в открытое состояние и наоборот.

Пусть известна доля открытых каналов $n(t)$ в момент времени t . Определим, какая доля каналов будет открыта через малый промежуток времени Δt в момент $t + \Delta t$. Понятно, что величина $n(t + \Delta t)$ определяется тем, какая часть закрытых каналов откроется за интервал Δt , и какая часть открытых – закроется.

Естественно предположить, что количество открывающихся каналов в единицу времени пропорционально доле закрытых каналов $1 - n$, а количество закрывающихся пропорционально числу открытых n .

Выпишем уравнение материального баланса, учтя приход-расход в си-

стеме открытых каналов:

$$n(t + \Delta t) = n(t) + (k_+ \cdot (1 - n) - k_- \cdot n) \cdot \Delta t.$$

Перепишем это выражение в виде:

$$\frac{n(t + \Delta t) - n(t)}{\Delta t} = k_+ \cdot (1 - n) - k_- \cdot n.$$

Заметим, что слева в этой формуле записана средняя за Δt скорость изменения доли n .

Теперь перейдем к пределу при $\Delta t \rightarrow 0$ и получим следующее ОДУ:

$$\frac{dn}{dt} = k_+ \cdot (1 - n) - k_- \cdot n \quad (1.5)$$

Это ОДУ является линейным неоднородным уравнением первого порядка для искомой функции $n(t)$. Это уравнение относится к типу уравнений с разделяющимися переменными, и его решение может быть выписано аналитически.

Перепишем уравнение (1.5) в эквивалентной форме:

$$\frac{dn}{dt} = -\frac{n - n_\infty}{\tau}, \quad (1.6)$$

где

$$n_\infty = \frac{k_+}{k_+ + k_-}, \quad \tau = \frac{1}{k_+ + k_-}. \quad (1.7)$$

Сделаем замену переменных: $x = n - n_\infty$, для которого справедливо линейное однородное уравнение:

$$\frac{dx}{dt} = -\frac{x}{\tau}. \quad (1.8)$$

Разделим переменные и проинтегрируем:

$$\int \frac{dx}{x} = - \int \frac{dt}{\tau}.$$

Общее решение имеет вид следующей экспоненциальной функции:

$$x = C \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}.$$

Здесь $C \in R$ – произвольная постоянная.

Для решения задачи Коши с начальными условиями $x(0) = x_0$, найдем $C = x_0$ и запишем частное решение:

$$x = x_0 \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}. \quad (1.9)$$

На рисунке 1.1 показано несколько решений (1.9) с различными значениями параметра τ . Видно, что с ростом времени $x(t) \rightarrow 0$, т.е. решения стремятся к нулевому стационарному состоянию. При этом, кривые тем круче, чем меньше значение параметра τ .

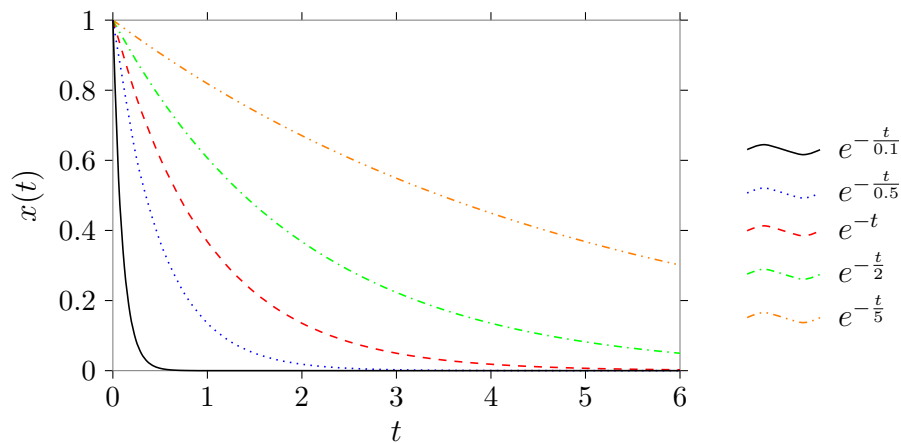


Рис. 1.1. Решение (1.9) уравнения (1.8) при различных значениях параметра τ

Выясним более детально смысл параметра τ .

Задача. Определим время T , за который решение (1.9) изменится в e раз, т.е. найдем T , при котором $x(T) = x_0/e$, $x_0 \neq 0$. Подставив это значение в формулу (1.9), получим:

$$\frac{x_0}{e} = x_0 \cdot e^{-\frac{T}{\tau}}.$$

Разделив обе части на x_0 , получим:

$$e^{-1} = e^{-\frac{T}{\tau}},$$

$$T = \tau.$$

Поскольку T не зависит от x_0 , его можно считать *характеристическим временем* для всех решений (1.9), удовлетворяющих уравнению (1.8), при заданном τ . Поэтому τ называется *константой времени* уравнения (1.9) или процесса (1.9). Понятно, что чем меньше τ , тем процесс протекает быстрее и стационарное решение достигается быстрее, чем при больших τ .

Можно переписать уравнение (1.8) в виде:

$$\frac{dx}{dt} = -\lambda \cdot x, \quad \lambda = \frac{1}{\tau}$$

.

Параметр λ называется *константой скорости* процесса и является обратной величиной константы времени τ .

Вернемся к исходной задаче отыскания доли открытых каналов n . Подставив в (1.9) вместо $x = n - n_\infty$, получим:

$$n = n_\infty + (n_0 - n_\infty) \cdot e^{-\frac{t}{\tau}}. \quad (1.10)$$

На рисунке 1.2 представлены решения задачи при различных значениях константы времени τ .

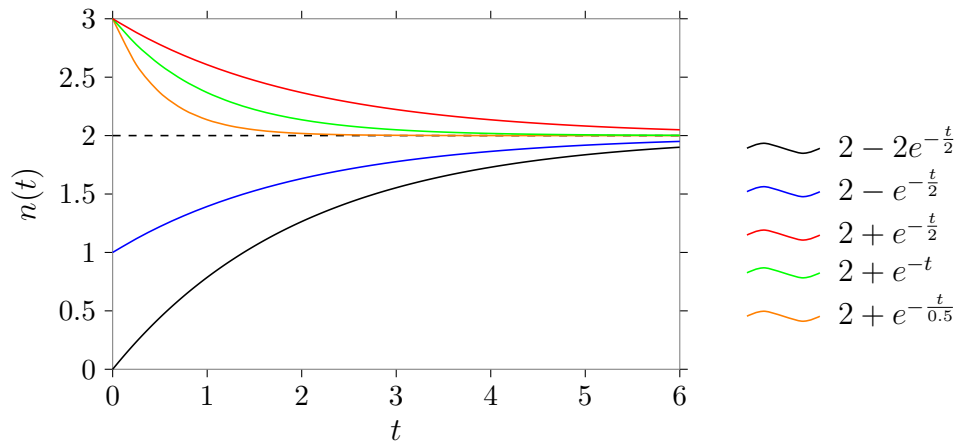


Рис. 1.2. Доля открытых каналов $n(t)$ в модели (1.6) при $n_\infty = 2$ и $n_0 = \{0, 1, 3\}$

Заметим, что выписать общее решение ОДУ в аналитическом виде или в квадратурах (в виде интегралов от известных функций) удастся лишь для

небольшого класса систем, в частности для линейных. Процессы, происходящие в биологических системах, как правило, существенно нелинейны, соответственно они описываются нелинейными уравнениями, которые, как правило не решаются в квадратурах.

Что делать, если отсутствует аналитическое решение или решение в квадратурах модельной системы?

1.1.3. Приближенное решение ОДУ. Вычислительный эксперимент

В большинстве случаев для анализа поведения моделей проводят вычислительные эксперименты, опирающиеся на приближенные методы интегрирования систем ОДУ. Как правило, для нахождения приближенного решения ОДУ необходимо вычислять функции в правой части системы, что для современных вычислительных устройств не представляет труда, какими бы сложными ни были эти функции.

В большинстве исследовательских задач приближенными методами находят решение начальной задачи или задачи Коши для системы ОДУ, т.е. частное решение системы (1.1) (или, в частности, (1.2)), удовлетворяющее начальным условиям:

$$X(0) = X_0.$$

Оставляя за пределами нашего изложения детали теории ОДУ, мы будем предполагать, что все необходимые условия существования и единственности решения задачи Коши выполнены. В частности, для автономной системы (1.2) для этого достаточно, чтобы функции в правой части были непрерывными вместе со своими частными производными в рассматриваемой области допустимых значений переменных.

Простейшим, но вместе с тем и наиболее часто употребляемым методом приближенного решения является *метод Эйлера* [26].

Проиллюстрируем его для простоты для скалярного ОДУ первого порядка, поскольку аналогичные построения без труда обобщаются для систем ОДУ в нормальной форме (1.1).

Итак, будем решать задачу Коши для уравнения:

$$\frac{dx}{dt} = f(t, x). \quad (1.11)$$

с начальными условиями:

$$x(t_0) = x_0. \quad (1.12)$$

Искомым решением является функция $x(t)$, удовлетворяющая начальному условию (1.12), для которой уравнение (1.11) превращается в тождество по t на некотором промежутке $[t_0, t_0 + T]$. График решения в плоскости (t, x) называется интегральной кривой уравнения (1.11).

Идея приближенных методов решения ОДУ опирается на физический и геометрический смысл ОДУ, связывающего производные (т.е. скорости изменения величин) и сами значения искомых функций.

В любой точке (t, x) области, где решается задача, ОДУ задает направление касательной к интегральной кривой (рис. 1.3). Действительно, тангенс угла наклона α касательной в силу уравнения нам известен:

$$\tan(\alpha) = \dot{x} = f(t, x).$$

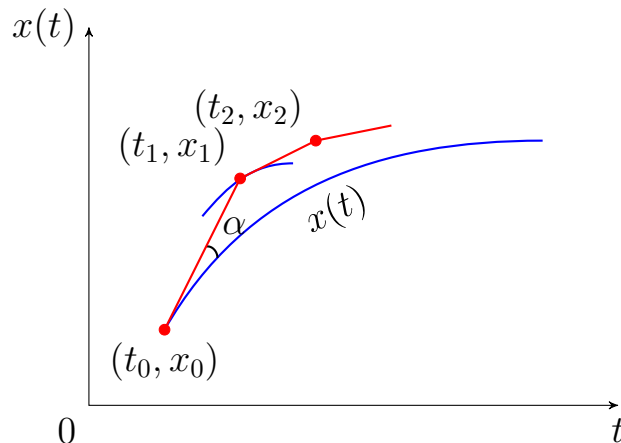


Рис. 1.3. Метод Эйлера (синяя линия – точное решение, красная – приближенное)

Другими словами, уравнение (1.11) задает поле направлений касательных к интегральным кривым уравнения.

Пусть мы хотим построить приближение интегральной кривой на от-

резке $[t_0, t_0 + T]$. Задав начальную точку (t_0, x_0) , мы можем двигаться на коротком интервале времени Δt в направлении касательной и приближенно найти следующую точку (t_1, x_1) , $t_1 = t_0 + \Delta t$, близкую к соответствующей точке $(t_1, x(t_1))$ на интегральной кривой (рис. 1.3). Другими словами, мы заменяем на промежутке $[t_0, t_1]$ неизвестную нам интегральную кривую $x = x(t)$ отрезком $[(t_0, x_0), (t_1, x_1)]$ известной нам в силу уравнения касательной к интегральной кривой в точке (t_0, x_0) . Очевидно, что по построению:

$$x_1 = x_0 + x'(t_0) \cdot (t_1 - t_0) = x_0 + f(t_0, x_0) \cdot \Delta t.$$

Построив приближение (t_1, x_1) , будем продолжать аналогичные построения и получим ломаную Эйлера $\{(t_k, x_k), k = 0, 1, \dots, n\}$ (рис. 1.3):

$$x_{k+1} = x_k + f(t_k, x_k) \cdot \Delta t. \quad (1.13)$$

В силу теоремы Эйлера при достаточно малых Δt эта ломаная является приближением искомого решения $x(t)$ с глобальной погрешностью метода порядка 1 (ошибка имеет глобальный порядок $O(\Delta t)$), т.е. для любого $t_k \in [t_0, t_0 + T]$ $|x(t_k) - x_k| \leq C \cdot \Delta t$, где C – константа.

Формулы (1.13) без труда переписываются для системы ОДУ (1.2), при этом вместо скалярной переменной x и функции f просто следует использовать векторную величину X и функцию $F(t, X)$.

Существуют разнообразные приближенные методы решения ОДУ, порядок погрешности которых выше первого. Большая точность может, например, достигаться за счет многократных пересчетов функции в правой части уравнения (1.11) в некоторых промежуточных точках, что дает более близкое к точному направление движения (взвешенный угол) при переходе от точки к точке в строящейся ломаной. К таким относятся широко используемые, высокоточные, но вычислительно-затратные методы Рунге-Кутты [26]. В других методах точность достигается за счет многошаговости, т.е. использования информации о приближенном решении не только на предыдущем временном шаге, как в методе Эйлера, но и на несколь-

ких предыдущих шагах. К таким методам относятся методы Адамса [26] и другие k -шаговые разностные методы.

Приближенные методы позволяют находить и анализировать частные решения уравнения (1.11) или в более общем случае системы уравнений (1.2). В случае сложных нелинейных систем большой размерности только вычислительный эксперимент, основанный на приближенном решении модельной системы, позволяет обнаружить особенности поведения модели в тех или иных условиях. Однако, эти методы не могут дать общей картины возможных режимов работы системы (“портрета” системы) при различных начальных условиях или в зависимости от значений параметров.

На многие вопросы, касающиеся качественного характера поведения системы, в частности о существовании и устойчивости стационарных состояний или колебательных режимов, отвечают методы качественной теории дифференциальных уравнений. Эти методы позволяют выявить важные особенности поведения модели, не прибегая к нахождению решения системы в явном виде. Правда, надо понимать, что качественные методы затруднительно (если вообще возможно) применять для сложных систем большой размерности, и в таких случаях требуются предварительно применять специальные методы редукции (декомпозиции) систем.

В рамках данного курса мы проиллюстрируем приемы качественного анализа ОДУ в относительно простых случаях: для скалярных уравнений и для систем ОДУ с двумя переменными, для которых можно использовать наглядную визуализацию обсуждаемых методов и их результатов.

1.1.4. Качественное исследование простейших моделей биологических процессов.

Начнем с качественного исследования скалярного ОДУ первого порядка:

$$\frac{dx}{dt} = f(x). \quad (1.14)$$

Фазовым пространством этой системы является числовая ось \mathbb{R} .

В первую очередь рассмотрим состояния равновесия системы, когда со-

стояние x не меняется во времени, т.е. $x \equiv const = \bar{x}$.

Следовательно, в этих точках

$$\left. \frac{dx}{dt} \right|_{x=\bar{x}} = 0.$$

Поэтому для нахождения стационарных точек следует приравнять правую часть уравнения нулю и найти решения уравнения:

$$f(x) = 0. \quad (1.15)$$

Изолированные корни $\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n$ алгебраического уравнения (1.15) являются *стационарными состояниями (точками покоя)* дифференциального уравнения (1.14). Если вывести систему из состояния равновесия, то она будет себя вести в соответствии с уравнением (1.14), описывающим ее переходные режимы между стационарными состояниями.

Биологические системы постоянно испытывают внешние воздействия и претерпевают многочисленные флуктуации. При этом биологическим системам присуще свойство гомеостаза – способность к саморегуляции открытой системы для сохранения постоянства (динамического равновесия) своего внутреннего состояния. На математическом языке это означает, что состояние возмущенной системы возвращается к своему стационарному состоянию. Другими словами, стационарное состояние является устойчивым к возмущениям. При анализе модели важно убедиться, будет ли она отражать характер поведения биологической системы, устойчивы ли стационарные состояния модели?

Содержательное определение устойчивости стационарного состояния связано с характером долговременного отклика системы на возмущение. Стационарное состояние является **устойчивым**, если при достаточно малом отклонении от положения равновесия состояние сильно не удалится от точки покоя (см. пример шарика в яме на рис. 1.4, панель а). Стационарное состояние называется **неустойчивым**, если малые отклонения со временем увеличиваются (см. пример шарика на горке на рис. 1.4, панель

b).

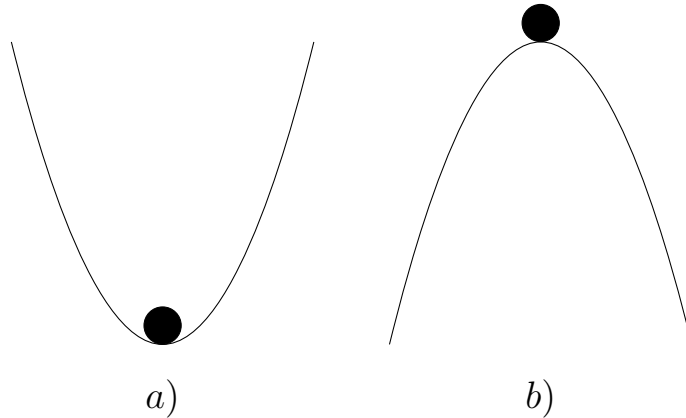


Рис. 1.4. Устойчивость стационарного состояния: (a) устойчивое, (b) неустойчивое

Математическое определение устойчивости выглядит следующим образом [19].

Стационарное состояние $x = \bar{x}$ уравнения (1.14) устойчиво по Ляпунову [19], если для любого $\varepsilon > 0$ найдется такое $\delta > 0$, что если $|x(t_0) - \bar{x}| < \delta$, то $|x(t) - \bar{x}| < \varepsilon$ для всех $t_0 \leq t < \infty$.

Т.е. можно выбрать такую начальную δ -окрестность точки покоя, что любая выпущенная из этой окрестности траектория системы остается в заданной ε -окрестности.

Если, кроме того, $|x(t) - \bar{x}| \rightarrow 0$ при $t \rightarrow \infty$, т.е. траектория приближается к точке покоя, то стационарное состояние называется *асимптотически устойчивым*.

Это определение обобщается и на случай системы (1.2) большей размерности.

В случае скалярного уравнения (1.14) можно, непосредственно исследуя характер функции $f(x)$ вблизи состояния равновесия $x = \bar{x}$, определить тип его устойчивости (см. рис. 1.5).

Рассмотрим возможные ситуации, изображенные на рис. 1.5, в предположении достаточной гладкости функции $f(x)$.

- а. Вблизи состояния равновесия \bar{x} функция $f(x)$ убывает, меняя знак с «+» на «-» при возрастании x (рис. 1.5, панель а). Это означает, что

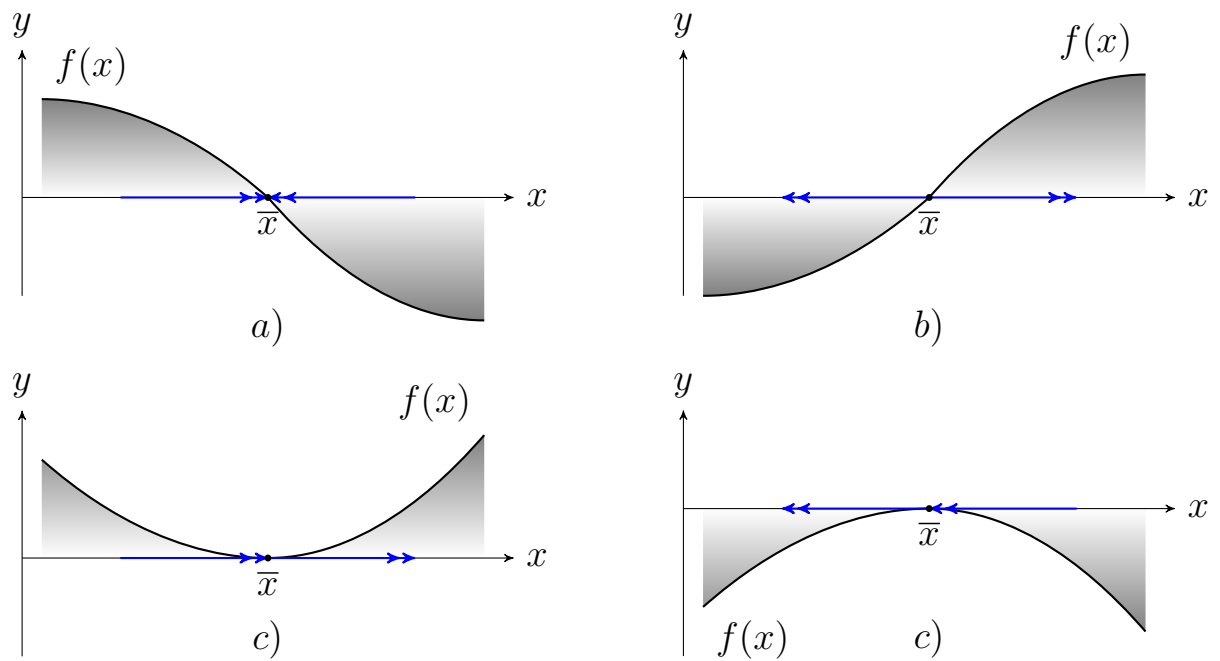


Рис. 1.5. Характер устойчивости особой точки в зависимости от поведения функции $f(x)$

при $x < \bar{x}$ скорость $dx/dt = f(x) > 0$, следовательно $x(t)$ увеличивается и стремится к \bar{x} . При этом по мере приближения к \bar{x} скорость роста x уменьшается, т.к. $f(x)$ приближается к 0. При $x > \bar{x}$, напротив, $dx/dt < 0$, следовательно $x(t)$ уменьшается и тоже стремится к \bar{x} . Отсюда следует, что при достаточной близости начальной точки x_0 к \bar{x} , $x(t)$ будет асимптотически приближаться к \bar{x} при возрастании t , т.е. состояние равновесия – асимптотически устойчиво. Заметим, что поскольку $f(x)$ убывает в окрестности \bar{x} , в этом случае $f'(\bar{x}) < 0$.

- б. Вблизи состояния равновесия \bar{x} функция $f(x)$ возрастает, меняя знак с « $-$ » на « $+$ » при возрастании x (рис. 1.5, панель b). При любом, как угодно близком к \bar{x} начальном значении x_0 , изображающая точка $x(t)$ будет удаляться от точки покоя. В этом случае $f'(\bar{x}) > 0$ и состояние равновесия \bar{x} неустойчиво.
- с. $f(x)$ не меняет знака вблизи состояния равновесия (рис. 1.5, панель c-d). Изображающая точка $x(t)$ с одной стороны будет приближаться к \bar{x} , а с другой стороны – удаляться. Состояние равновесия является неустойчивым по Ляпунову, но ситуация несколько отличается от

регулярного случая выше. Заметим, что в этом специальном случае $f'(\bar{x}) = 0$.

Существует аналитический метод определения устойчивости состояния равновесия, предложенный А. А. Ляпуновым и пригодный для исследования систем уравнений. В рамках этого метода для анализа типа устойчивости точки покоя используется *система первого приближения* для исходной системы.

Пусть $x \equiv \bar{x}$ – стационарное состояние уравнения (1.14). Будем рассматривать поведение решения уравнения в окрестности точки покоя: $x = \bar{x} + \xi$, где ξ – достаточно мало. Подставим это выражение для x в исходное уравнение:

$$\frac{d(\bar{x} + \xi)}{dt} = f(\bar{x} + \xi).$$

Заметим, что

$$\frac{d(\bar{x} + \xi)}{dt} = \frac{d\xi}{dt}.$$

Правую часть разложим в ряд Тейлора в окрестности \bar{x} :

$$\frac{d\xi}{dt} = f(\bar{x}) + f'(\bar{x}) \cdot \xi + \frac{1}{2} \cdot f''(\bar{x}) \cdot \xi^2 + \dots$$

Учтя, что $f(\bar{x}) = 0$ и $f'(\bar{x}) \neq 0$, оставим только линейный член по ξ в правой части уравнения и получим:

$$\frac{d\xi}{dt} = f'(\bar{x}) \cdot \xi. \quad (1.16)$$

Получили *уравнение первого приближения* (1.16) для исходного уравнения (1.14).

Введем обозначение: $a = f'(\bar{x})$. Решение уравнения (1.16) имеет вид: $\xi(t) = \xi_0 \cdot e^{at}$, где $\xi(0) = \xi_0$ (рис. 1.6).

Если $a = f'(\bar{x}) < 0$, то первое приближение $\xi(t)$ для отклонения от точки покоя будет со временем затухать ($\xi(t) \rightarrow 0$). В соответствии с теоремой Ляпунова об устойчивости по первому приближению, стационарное состояние \bar{x} является *асимптотически устойчивым*.

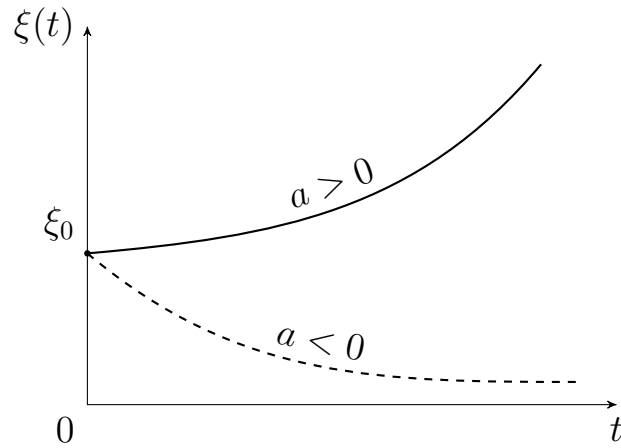


Рис. 1.6. График решения уравнения первого приближения. При $a > 0$ решение является возрастающей функцией, при $a < 0$ – убывающей

Если $a = f'(\bar{x}) > 0$, то с увеличением времени $\xi(t)$ будет только увеличиваться, и по теореме Ляпунова стационарное состояние \bar{x} – *неустойчивое*.

В случае $a = f'(\bar{x}) = 0$ (критический случай) уравнение первого приближения (1.16) вырождается, и для ответа на вопрос об устойчивости стационарного состояния необходимо рассматривать члены более высокого порядка разложения функции в ряд Тейлора.

Итак, в регулярных случаях устойчивость стационарного состояния уравнения (1.14) определяется знаком производной правой части в стационарной точке.

Пример модели кинетики ионных каналов. Проведем качественный анализ уравнения (1.6): найдем стационарные решения и определим их устойчивость.

Точки покоя удовлетворяют уравнению:

$$f(x) = -\frac{n - n_{\infty}}{\tau} = 0,$$

следовательно, $n = n_{\infty}$ – стационарное решение уравнения (1.6).

При этом, $f'(n_{\infty}) < 0$, так что точка покоя – асимптотически устойчива.

Таким образом, в уравнении динамики открытия ионных каналов (1.6) оба параметра функции в правой части имеют важный биологический смысл, параметр n_{∞} определяет стационарное значение доли открытых

каналов, к которому стремится величина $n(t)$ при любом n_0 , а параметр τ – константа времени процесса, которая определяет как быстро достигается стационарное состояние (рис. 1.2).

На этом простом примере мы проиллюстрировали, как, не находя решения уравнения (тем более, это почти всегда невозможно), провести качественный анализ его поведения.

Обратим внимание на одну важную особенность моделей, описываемых скалярным автономным ОДУ (1.6). В случае гладкой функции $f(x)$ в правой части уравнения (1.6) могут быть описаны только монотонные изменения переменной x . Следовательно, ни периодические, ни хаотические процессы в рамках таких простых уравнений описаны быть не могут! Для описания более сложного поведения систем необходимо либо переходить к системам большей размерности (2, 3 порядка и выше), либо вводить время в явном виде в правую часть уравнения.

1.2. Методы качественного исследования системы дифференциальных уравнений

Вкратце изложим основные приемы качественного исследования систем ОДУ на примере автономной системы двух ОДУ, которая в нормальной форме записывается следующим образом:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= P(x, y) \\ \frac{dy}{dt} &= Q(x, y)\end{aligned}\tag{1.17}$$

Заранее договоримся, что все условия существования и единственности решения начальной задачи (задачи Коши) для системы (1.17) с начальными условиями

$$x(0) = x_0, y(0) = y_0$$

выполнены в некоторой области фазового пространства допустимых значений $(x, y) \in G$. Например, $P(x, y)$, $Q(x, y)$ – гладкие функции в G . Во многих биологических задачах в качестве фазового пространства G мы

будем рассматривать 1-й (положительный) квадрант координатной плоскости: $0 \leq x < \infty$, $0 \leq y < \infty$.

Переменные $x(t)$, $y(t)$ изменяются во времени в соответствии с законом (1.17). Состоянию системы в момент времени t можно поставить в соответствие точку M с координатами $(x(t), y(t))$. Тогда взаимосвязанное изменение обеих координат в силу системы (1.17) будет определять траекторию движения изображающей точки $M(t)$ в фазовом пространстве – фазовую траекторию. Совокупность фазовых траекторий при различных начальных значениях переменных дает наглядный ”портрет” системы. Построение фазового портрета позволяет сделать выводы о характере изменений переменных x , y без отыскания аналитических решений исходной системы уравнений (1.17) (что почти всегда невозможно сделать).

Как построить фазовую траекторию, определяемую системой (1.17)?

Способ 1. Определимся вначале с физическим и геометрическим смыслом системы (1.17). В силу системы мы можем вычислить вектор мгновенной скорости движения точки $M = (x, y)$ на фазовой плоскости:

$$\vec{v} = \{v_x, v_y\} = \{\dot{x}, \dot{y}\} = \{P(x, y), Q(x, y)\}. \quad (1.18)$$

Таким образом, система (1.18) задает на фазовой плоскости *векторное поле направлений* движения изображающей точки.

Начиная в начальный момент времени $t = 0$ с некоторой выбранной точки $M_0 = (x_0, y_0)$, можно, двигаясь в соответствии с этим полем направлений, восстановить фазовую траекторию системы.

Перемещение точки M_0 за время Δt можно приближенно вычислить как произведение скорости на время $\vec{s} = \vec{v}|_{M_0} \cdot \Delta t$. Тогда за время Δt точка M_0 переместится в точку $M_1 = M_0 + \vec{v}|_{M_0} \cdot \Delta t$. Продолжая аналогичным образом, мы получим орбиту $\{M_0, M_1, M_2, \dots\}$, представляющую дискретное приближение к искомой фазовой траектории $M(t)$ (см. рис. 1.7). Важной особенностью фазовой траектории является то, что в силу системы мы можем указать направление движения изображающей точки вдоль этой

траектории, соответствующее росту времени t .

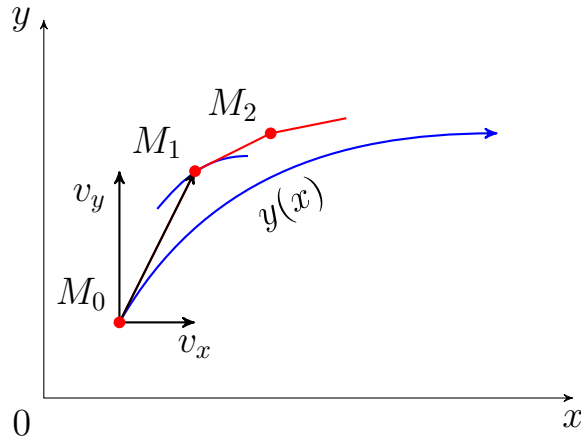


Рис. 1.7. Построение фазового портрета

Данный метод построения приближения фазовой траектории фактически является векторной формой записи метода Эйлера [26] для приближенного решения системы (1.17):

$$\begin{aligned} x_{n+1} &= x_n + P(x_n, y_n) \cdot \Delta t, \\ y_{n+1} &= y_n + Q(x_n, y_n) \cdot \Delta t. \end{aligned} \quad (1.19)$$

Интуитивно ясно, что уменьшая шаг движения по времени Δt мы будем все точнее приближать искомую фазовую траекторию. Соответствующая теорема Эйлера [26] гарантирует сходимость данного метода к решению начальной задачи системы (1.17) с глобальной погрешностью $O(\Delta t)$.

Способ 2. Для отыскания фазовой траектории можно поступить несколько иначе.

Разделим второе уравнение системы (1.17) на первое:

$$\frac{dy}{dx} = \frac{Q(x, y)}{P(x, y)} \quad (1.20)$$

Решение уравнения (1.20) дает семейство интегральных кривых $y = y(x)$, которые представляют собой фазовые траектории системы (1.17) на фазовой плоскости (x, y) (рис. 1.7).

Заметим, что преобразование системы к уравнению допустимо при $P(x, y) \neq 0$. В точках, где $P(x, y) = 0$ (т.е. в точках соответствующей

кривой на фазовой плоскости) функция в правой части уравнения (1.20) не определена, и могут быть нарушены условия существования и единственности решения этого уравнения. Таким образом, мы видим, что в этом случае система (1.17) не эквивалентна уравнению (1.20). В то же время, руководствуясь изложенным выше способом 1, мы без труда можем построить вектор скорости в точках, где $P(x, y) = 0$. Он будет иметь нулевую первую координату, т.е. $\vec{v} = \{P(x, y), Q(x, y)\} = \{0, v_y \neq 0\}$ – направлен вертикально, и соответствующая фазовая траектория так же может быть построена в точках кривой $P(x, y) = 0$.

1.2.1. Метод изоклин

Для построения фазового портрета удобно пользоваться *методом изоклин* [19].

Изоклина – это линия на фазовой плоскости, которая пересекает интегральные кривые уравнения (1.20) (или фазовые траектории системы) под некоторым одинаковым углом, т.е. в каждой точке этой линии пересекающие ее фазовые траектории имеют одно и то же направление вектора скорости, или соответствующие интегральные кривые имеют одинаковый угол наклона касательной.

В соответствии с уравнением (1.20), получим уравнение изоклины, задав некоторое значение тангенса угла наклона α касательной к интегральной кривой, которое должно быть одинаковым во всех точках искомой изоклины.

Зададим некоторое значение C и воспользуемся равенством:

$$\frac{dy}{dx} = \tan(\alpha) = C. \quad (1.21)$$

По определению, значение C может принимать значения от $-\infty$ до $+\infty$.

Подставляя вместо dy/dx в (1.20) величину C , получим уравнение изоклины:

$$\frac{Q(x, y)}{P(x, y)} = C. \quad (1.22)$$

Совокупность изоклин, соответствующих уравнению (1.22) при различных значениях C , определяет поле направлений касательных к интегральным кривым вдоль каждой из этих линий. Исключение оставляют лишь точки, где одновременно выполняются равенства $P(x, y) = 0$ и $Q(x, y) = 0$, так что направление касательной становится неопределенным.

Эта точка является **особой точкой** уравнения (1.20). В ней одновременно обращаются в нуль производные \dot{x} и \dot{y} . Следовательно, особая точка уравнения (1.20) является точкой покоя или стационарным состоянием системы (1.17).

Рассмотрим главные изоклины:

$$\begin{aligned} \frac{dy}{dx} = 0, \quad Q(x, y) = 0 & \text{ — изоклина горизонтальных касательных,} \\ \frac{dy}{dx} = \infty, \quad P(x, y) = 0 & \text{ — изоклина вертикальных касательных.} \end{aligned} \quad (1.23)$$

Очевидно, что точки покоя системы (1.17) являются точками пересечения главных изоклин, т.е. удовлетворяют стационарной системе (см. рис. 1.8):

$$\begin{aligned} P(\bar{x}, \bar{y}) &= 0 \\ Q(\bar{x}, \bar{y}) &= 0. \end{aligned} \quad (1.24)$$

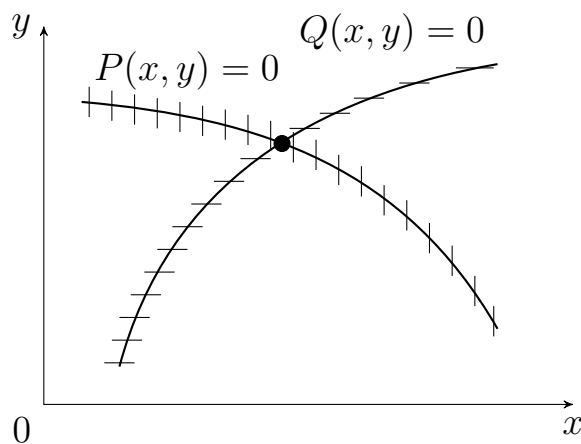


Рис. 1.8. Пересечение главных изоклин на фазовой плоскости

Иногда для построения фазового портрета системы бывает достаточно изобразить только ее главные изоклины и найти их точки пересечения, что позволяет предсказать характер поведения фазовых траекторий в окрест-

НОСТИ ТОЧЕК ПОКОЯ.

1.2.2. Исследование устойчивости стационарных состояний нелинейных систем

Как и в случае скалярного уравнения, рассмотрим характер поведения системы в окрестности точки покоя (\bar{x}, \bar{y}) :

$$\begin{aligned} x &= \bar{x} + \xi \\ y &= \bar{y} + \eta. \end{aligned} \tag{1.25}$$

Подставим эти выражения в (1.17) и разложим правые части уравнений в ряд Тейлора. Учтем, что $P(\bar{x}, \bar{y}) = 0$ и $Q(\bar{x}, \bar{y}) = 0$, и, отбросив в разложении нелинейные члены, получим систему первого приближения для системы (1.17):

$$\begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= P'_x(\bar{x}, \bar{y})\xi + P'_y(\bar{x}, \bar{y})\eta, \\ \frac{d\eta}{dt} &= Q'_x(\bar{x}, \bar{y})\xi + Q'_y(\bar{x}, \bar{y})\eta. \end{aligned} \tag{1.26}$$

Система (1.26) является системой линейных дифференциальных уравнений с постоянными коэффициентами, которую в векторной форме можно записать в виде:

$$\frac{dX}{dt} = A \cdot X, \tag{1.27}$$

где $X = (\xi, \eta)^\top$ – вектор смещений от точки покоя системы, A – постоянная матрица системы первого приближения:

$$A = \begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} P'_x(\bar{x}, \bar{y}) & P'_y(\bar{x}, \bar{y}) \\ Q'_x(\bar{x}, \bar{y}) & Q'_y(\bar{x}, \bar{y}) \end{pmatrix}$$

или в координатной форме:

$$\begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= a\xi + b\eta \\ \frac{d\eta}{dt} &= c\xi + d\eta. \end{aligned} \tag{1.28}$$

Для большого класса нелинейных систем – **грубых систем** – характер

поведения которых не меняется при малом изменении параметров системы, информацию о типе поведения в окрестности стационарного состояния можно получить, исследуя не исходную, а упрощенную систему первого приближения.

В соответствии с теоремой Ляпунова [10] об устойчивости по первому приближению следует определить собственные значения $\lambda_{1,2}$ матрицы первого приближения A . Если действительные части собственных значений отрицательны ($Re(\lambda_{1,2}) < 0$), то точка покоя – асимптотически устойчива, если хотя бы одна из них положительна ($Re(\lambda_i) > 0$), то точка покоя – неустойчивая.

В других случаях для определения типа устойчивости точки покоя недостаточно знать только линейное приближение и требуется проводить дополнительное исследование с учетом более старших слагаемых в разложении правой части системы в ряд Тейлора.

Смысл теоремы Ляпунова становится понятным, если вспомнить, какие возможные типы точек покоя имеет линейная однородная система ОДУ вида (1.27) и как, соответственно, выглядит фазовый портрет такой системы в зависимости от типа точки покоя [19].

1.2.3. Фазовые портреты системы линейных ОДУ

Во-первых, будем считать, что линейная система (1.27) имеет невырожденную матрицу A , т.е. $\det(A) = a \cdot d - b \cdot c \neq 0$. В этом случае система (1.27) имеет единственную точку покоя $(0, 0)$.

Общее решение системы линейных ОДУ размерности n записывается в виде линейной комбинации n линейно-независимых фундаментальных решений, которые по аналогии со скалярным линейным уравнением можно найти в виде комплексной экспоненциальной функций вида:

$$\Phi(t) = h \cdot \exp(\lambda t), \quad (1.29)$$

где $\lambda = \mu + i\nu \neq 0$ – комплексная константа, а $h = (h_1, h_2)^T \neq 0$ – комплексный вектор.

В соответствии с формулой Эйлера

$$\exp(\lambda t) = \exp(\mu t)(\cos \nu t + i \sin \nu t).$$

Кроме того, как и для скалярной функции, для комплексной функции $\exp(\lambda t)$ справедливо (можно проверить непосредственно при помощи формулы Эйлера):

$$(\exp(\lambda t))' = \lambda \cdot \exp(\lambda t).$$

Подставив функцию (1.29) в уравнение (1.27), получим:

$$\lambda h \exp(\lambda t) = A h \exp(\lambda t),$$

откуда следует, что пара λ и h должна удовлетворять следующему алгебраическому уравнению:

$$A h = \lambda h,$$

т.е. они должны быть собственным числом и собственным вектором матрицы A соответственно и удовлетворять уравнению:

$$(A - \lambda E)h = 0.$$

Чтобы это уравнение имело ненулевые решения, λ должно быть корнем характеристического уравнения:

$$\det(A - \lambda E) = 0. \quad (1.30)$$

Действительным собственным числам λ соответствуют действительные собственные векторы h и фундаментальные решения $\Phi(t)$ вида (1.29), комплексно-сопряженным λ – комплексно-сопряженные h и $\Phi(t)$. Каждой паре комплексно-сопряженных фундаментальных решений соответствует пара действительных линейно-независимых решений – действительная и мнимая части соответствующих комплексных функций $\Phi(t)$ ($Re(\Phi(t))$ и $Im(\Phi(t))$). Различным (некратным) собственным числам соответствуют линейно-независимые собственные векторы и фундаментальные решения

линейного ОДУ. Кратным собственным числам соответствуют функции вида

$$\Phi(t) = h_k \cdot t^k \exp(\lambda t), \quad k = 0, \dots, r - 1,$$

где r – кратность собственного числа λ .

Таким образом, для линейной системы ОДУ с постоянной матрицей A , имеющей с учетом кратности n собственных чисел, выписывается ровно n линейно-независимых фундаментальных решений, имеющих в качестве множителя экспоненты, в показателе которых присутствуют действительные части собственных чисел $Re(\lambda_i)$. Общее решение (и, значит, любое частное решение) представляет собой линейную комбинацию этих фундаментальных решений.

Отсюда становится ясно, что если все показатели экспонент – отрицательные ($Re(\lambda_i) < 0$ для всех i), решение стремится к нулю с ростом времени, и точка покоя системы $(0, 0)$ – асимптотически устойчивая. Если же хотя бы один показатель – положительный ($Re(\lambda_i) > 0$ для какого-либо i), то решение со временем уходит в бесконечность, и точка покоя системы $(0, 0)$ – неустойчивая.

В случае рассматриваемой выше системы первого приближения (1.28) имеем:

$$\begin{vmatrix} (a - \lambda) & b \\ c & (d - \lambda) \end{vmatrix} = \lambda^2 - (a + d)\lambda + (ad - bc) = \lambda^2 - \sigma\lambda + \Delta = 0, \quad (1.31)$$

где $\sigma = Sp(A)$ – след матрицы A , $\Delta = \det(A)$ – определитель.

Квадратное характеристическое уравнение (1.31) имеет два решения:

$$\lambda_{1,2} = \frac{1}{2} \left(\sigma \pm \sqrt{\sigma^2 - 4\Delta} \right), \quad (1.32)$$

от типа которых зависит вид фазового портрета и устойчивость точки покоя.

Рассмотрим основные невырожденные варианты:

1. Собственные числа $\lambda_{1,2}$ – ненулевые, действительные и различные.

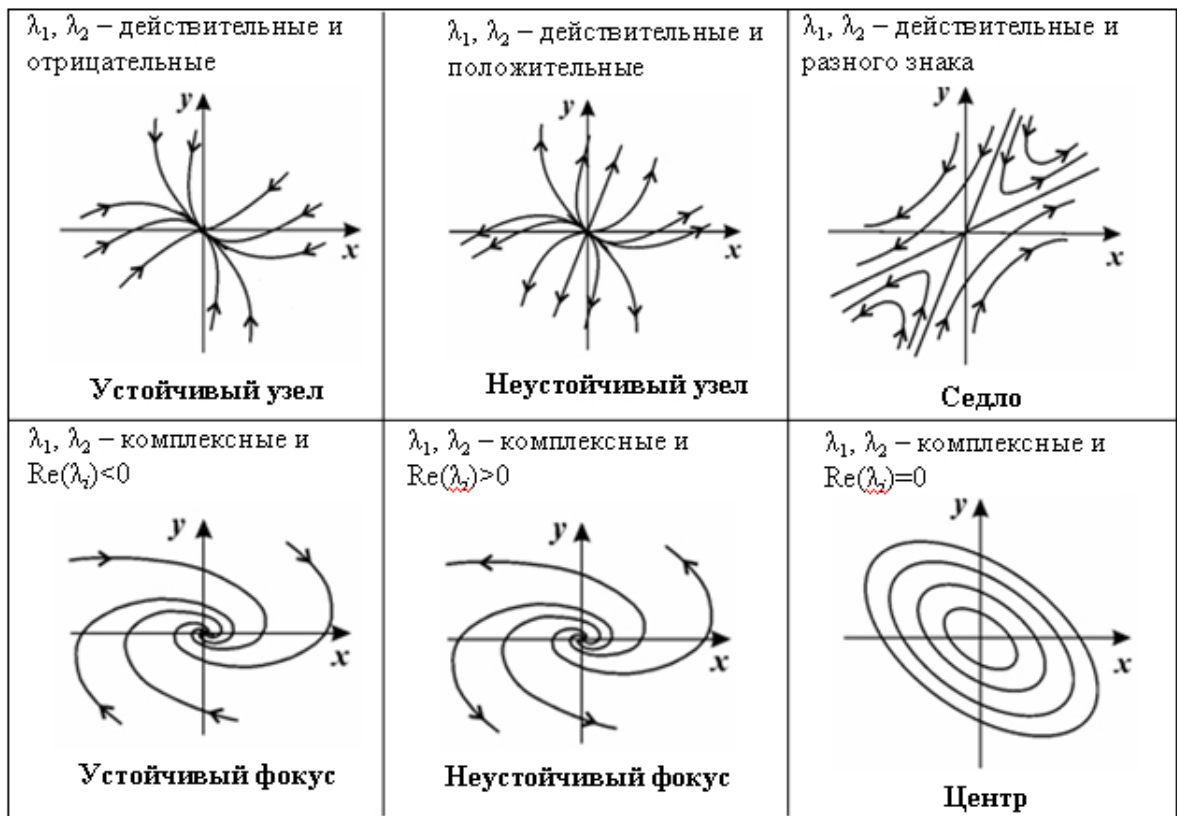


Рис. 1.9. Возможные типы особых точек и фазовых портретов в зависимости от собственных значений матрицы

Этот случай имеет место, когда в формуле (1.32) выполняются неравенства:

$$\Delta \neq 0, \sigma^2 - 4\Delta > 0,$$

или в эквивалентной форме:

$$0 \neq \Delta < \frac{\sigma^2}{4}.$$

Общее решение имеет вид:

$$X = C_1 \exp(\lambda_1 t) \cdot h_1 + C_2 \exp(\lambda_2 t) \cdot h_2,$$

где $h_{1,2}$ – действительные собственные векторы, $C_{1,2} \in R$ – свободные константы.

Видно, что вектор $X(t)$ (т.е. точка в фазовой плоскости) может быть

представлен в виде разложения по собственным векторам $h_{1,2}$ в виде:

$$X(t) = \zeta_1(t) \cdot h_1 + \zeta_2(t) \cdot h_2,$$

где $\zeta_1(t) = C_1 \exp(\lambda_1 t)$ и $\zeta_2(t) = C_2 \exp(\lambda_2 t)$.

Представим, что $h_{1,2}$ – базисные ортонормальные вектора. Этого всегда можно добиться при помощи линейного преобразования координат, поскольку $h_{1,2}$ – линейно-независимые векторы и, значит, неколлинеарные.

Тогда ζ_1 и ζ_2 – суть координаты точки X в этом пространстве, а сама фазовая траектория при этом задается параметрически, где в роли параметра выступает время t .

При $C_{1,2} = 0$ имеем точку покоя системы $(0, 0)$. При $C_1 = 0$ имеем $\zeta_1 = 0$, и фазовые траектории лежат на оси h_2 . При $C_1 \neq 0$ нетрудно показать, что

$$\zeta_2 = C \cdot \zeta_1^{\lambda_2/\lambda_1},$$

и вид зависимости $\zeta_2 = \phi(\zeta_1)$, т.е. вид соответствующей кривой $X(t)$, определяется знаками $\lambda_{1,2}$.

1.1. Если $0 < \Delta < \frac{\sigma^2}{4}$, то $\lambda_{1,2}$ – различные и *одного знака*.

Тогда $\zeta_2 = \phi(\zeta_1)$ – степенная функция, точка покоя – *узел*, устойчивый для $\lambda_{1,2} < 0$ или неустойчивый для $\lambda_{1,2} > 0$ (см. рис. 1.9).

1.2. Если $\Delta < 0$, то $\lambda_{1,2}$ – различные и *разных знаков*.

$\zeta_2 = \phi(\zeta_1)$ – гиперболическая функция, точка покоя – *седло*, она неустойчивая (см. рис. 1.9).

В этом случае есть только одна фазовая траектория, вдоль которой изображающая точка стремится к точке покоя – это ось собственного вектора h_i , соответствующего отрицательному собственному числу λ_i (см. рис. 1.9). Эта ось называется *сепаратри-*

сой седла, она разделяет фазовую плоскость на две половины, в которых траектории расходятся в противоположных направлениях, уходя в бесконечность и приближаясь при этом к оси второго вектора, соответствующего положительному λ_i .

Понятно, что если $h_{1,2}$ не являются ортонормальными векторами, то вследствие линейного преобразования пространства, т.е. поворота и растяжения осей, вид кривых и тип точек покоя качественно не изменятся.

2. Если $\Delta > \frac{\sigma^2}{4}$, то *собственные числа* $\lambda_{1,2} = \mu \pm i\nu$ – *комплексно-сопряженные*. В этом случае, как было отмечено выше, фундаментальные решения системы представляют комплексно-сопряженные функции $\Phi(t)$ и $\bar{\Phi}(t)$, где

$$\Phi(t) = h \cdot \exp(\lambda t), \quad (1.33)$$

где $\lambda = \mu + i\nu$, h – соответствующий комплексный собственный вектор.

Что нового дает комплексная экспонента $z = \exp(\lambda t)$ в поведении фундаментальных решений по сравнению с действительной экспонентой?

Используя формулу Эйлера запишем:

$$z = \exp(\lambda t) = \exp((\mu + i\nu)t) = e^{\mu t} e^{i\nu t} = e^{\mu t} (\cos \nu t \pm i \sin \nu t).$$

Комплексное число z можно представить на плоскости в виде точки с координатами

$$z = \{e^{\mu t} \cos \nu t, e^{\mu t} \sin \nu t\},$$

или в виде радиус-вектора $z = \rho \cdot e^{i\varphi}$, где длина вектора $\rho = e^{\mu t}$, а угол поворота $\varphi = \nu t$.

Понятно, что с ростом t будет меняться и длина вектора ρ , и угол поворота φ . Следовательно, точка z будет вращаться по спирали.

При этом, если $\mu < 0$, то с ростом t радиус $\rho = e^{\mu t}$ будет стремиться к

нулю, т.е. спираль будет закручиваться к началу координат (т.е. точке покоя системы). Если $\mu > 0$, то ρ будет расти, а спираль раскручиваться от центра. Наконец, при $\mu = 0$ радиус ρ меняться не будет, следовательно z будет вращаться по окружности. При этом величина ν определяет частоту вращения z по спирали (окружности).

Умножение комплексной экспоненты на постоянные комплексные вектора и комплексные константы не изменит качественного поведения кривых на плоскости, поэтому фазовые траектории в случае комплексных корней – это аналогичные спирали, только растянутые по осям и повернутые в соответствии с линейным преобразованием координат, или эллипсы – вместо окружности в случае $\mu = 0$ (см. рис. 1.9).

Можно показать, что все действительные решения системы с комплексно-сопряженными $\lambda_{1,2}$ можно записать в виде следующей линейной комбинации фундаментальных функций:

$$X(t) = C \cdot \Phi(t) + \bar{C} \cdot \bar{\Phi}(t),$$

где C – комплексная константа, $\Phi(t)$ определяется формулой (1.33), \bar{C} и $\bar{\Phi}(t)$ – комплексно-сопряженные к C и $\Phi(t)$.

Представим собственный вектор h и $z = C \cdot \exp(\lambda t)$ в виде:

$$h = \frac{1}{2}(h_1 - ih_2), \quad z = \zeta_1(t) + i\zeta_2(t).$$

Тогда

$$X(t) = \frac{1}{2}(\zeta_1(t) + i\zeta_2(t))(h_1 - ih_2) = \zeta_1(t)h_1 + \zeta_2(t)h_2.$$

Как и в рассмотренном ранее случае действительных собственных чисел, мы получили разложение решения по линейно-независимым компонентам собственного вектора, которые, для простоты, можно считать ортонормированными. Тогда ζ_1 и ζ_2 – суть координаты точки X в этом пространстве.

Мы видим, что эти координаты представляют собой действительную и мнимую часть комплексного числа $z = C \cdot \exp(\lambda t)$.

Пусть $C = C_1 + iC_2 = R \cdot e^{i\varphi_0}$, где $R = |C| = \sqrt{C_1^2 + C_2^2}$, $\tan(\varphi_0) = C_2/C_1$. Тогда

$$z = C \cdot \exp(\lambda t) = Re^{i\varphi_0} \cdot e^{\mu t} e^{i\nu t} = Re^{\mu t} e^{i(\nu t + \varphi_0)} = \rho e^{i\varphi},$$

где

$$\rho = Re^{\mu t}, \quad \varphi = \nu t + \varphi_0.$$

Понятно, что точка $z(t)$ описывает во времени спирали, которые закручиваются при $\mu < 0$, раскручиваются при $\mu > 0$, или при $\mu = 0$ происходит движение по окружности с постоянным радиусом ρ . Заметим, что в результате линейного преобразования координат при переходе к неортонормированным базисным векторам $h_{1,2}$, окружности трансформируются в эллипсы.

Итак, суммируя сказанное выше мы приходим к следующим видам фазового портрета системы в случае комплексно-сопряженных корней (1.32) характеристического уравнения (1.31).

2.1. При $\Delta > \frac{\sigma^2}{4}$ и $\sigma < 0$, имеем $\lambda_{1,2} = \mu \pm i\nu$, где $\mu < 0$.

Точка покоя системы – *асимптотически устойчивый фокус* (рис. 1.9), фазовые траектории – закручивающиеся к точке покоя спирали, описывающие затухающие колебания $X(t)$ вокруг точки покоя.

2.2. При $\Delta > \frac{\sigma^2}{4}$ и $\sigma > 0$, имеем $\lambda_{1,2} = \mu \pm i\nu$, где $\mu > 0$.

Точка покоя системы – *неустойчивый фокус* (рис. 1.9), фазовые траектории – раскручивающиеся от точки покоя спирали, т.е. колебания $X(t)$ с возрастающей амплитудой.

2.3. При $\sigma = 0$ и $\Delta > 0$ имеем $\lambda_{1,2} = \pm i\nu$ – чисто мнимые корни.

Точка покоя системы – *центр* (рис. 1.9), фазовые траектории – эллипсы с центром в точке покоя, описывающие *периодические*

колебания состояния $X(t)$. Точка покоя является устойчивой, но не асимптотически устойчивой, поскольку траектории со временем не приближаются к точке покоя.

3. Оставим на самостоятельное рассмотрение читателя остальные возможные варианты корней характеристического уравнения: действительные совпадающие корни или действительные корни, один из которых (или оба) равен нулю, и соответствующие им фазовые портреты (см. также [19]).

Итак, мы показали, что тип устойчивости точки покоя линейной системы ОДУ с постоянными коэффициентами (1.27), в частности, системы первого приближения (1.26) для нелинейной системы уравнений (1.17), определяется знаками действительных частей собственных чисел матрицы системы. Далее, мы показали, что в рамках такой системы возможно описать колебательные процессы – либо затухающие колебания, либо колебания с нарастающей амплитудой, либо периодические колебания! Ранее мы обращали внимание, что колебания невозможно описать в рамках скалярных моделей.

Возвращаясь к исходной задаче анализа нелинейной системы ОДУ (1.17), мы видим, что в невырожденных случаях ее поведение в малой окрестности точки покоя качественно близко к поведению соответствующей системы первого приближения. В то же время, нелинейность правых частей уравнений позволяет системе демонстрировать большее разнообразие сценариев поведения, например, предельные циклы – устойчивые периодические колебания, не зависящие от начальных условий системы, а также хаотические режимы поведения.

Приемы качественного анализа систем ОДУ, изложенные в этой главе, мы будем использовать в последующих разделах при обсуждении поведения рассматриваемых моделей биологических систем.

2. СКАЛЯРНЫЕ МОДЕЛИ ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ

2.1. Непрерывные модели динамики популяций

В качестве примера использования скалярных уравнений для моделирования биологических процессов рассмотрим простые примеры моделирования численности популяций, которые затем будут использованы в более сложных системах взаимодействующих видов (см. раздел 4 и 5).

Популяция – группа особей, способная к более-менее устойчивому воспроизводству, относительно обособленная от других групп.

2.1.1. Уравнение экспоненциального роста

Одной из наиболее широко известных моделей популяционной динамики является классическая модель Мальтуса [66], предложенная английским священником и экономистом Томасом Робертом Мальтусом в работе «Опыт о законе народонаселения» в 1798 году. В этой модели численность популяции N описывается в виде геометрической прогрессии:

$$N_{t+1} = q \cdot N_t, \quad (2.1)$$

$$q > 0, q \neq 1.$$

Можно выразить текущее значение $N(t)$ через начальное значение N_0 .

$$N_t = q^t \cdot N_0.$$

При $q > 1$ численность населения $N(t)$ растет неограниченно. В предположении, что питательные ресурсы прирастают в арифметической прогрессии, а население – в геометрической, модель Мальтуса предсказывала наступление неизбежного голода и его плачевных для населения последствий в виде войн, гибели, разрухи и т.д.

При $0 < q < 1$ численность населения $N(t)$ стремится к нулю, т.е. модель

предсказывает гибель населения при недостаточном воспроизводстве.

Конечно, модель слишком проста, чтобы описать реальные процессы в обществе, но на некоторых конечных промежутках времени она может неплохо имитировать рост (или убыль) численности популяции.

Теперь положим, что t – непрерывная переменная и продифференцируем функцию

$$x = q^t \cdot x_0.$$

Имеем:

$$x' = (q^t \cdot x_0)' = x_0 \cdot q^t \cdot \ln(q) = x \cdot \ln(q).$$

Обозначим $r = \ln(q)$ и получим следующее линейное однородное ОДУ для численности населения x в непрерывном представлении:

$$\frac{dx}{dt} = r \cdot x. \quad (2.2)$$

Заметим, что $r > 0$ при $q > 1$, т.е. в случае преобладающего воспроизводства популяции. Напротив, $r < 0$ при $0 < q < 1$, когда убыль населения преобладает над прибылью.

Мы уже рассмотрели уравнение вида (2.2) и знаем, что его решением будет экспоненциальная функция:

$$x = x_0 \cdot e^{rt}. \quad (2.3)$$

График функции (2.3) при положительных (размножение) и отрицательных (вымирание) значениях константы скорости роста r представлен на рисунке 2.1.

Уравнение (2.2) можно получить другим способом.

Пусть за время Δt пополнение численности равно $\Delta x = B - D$, где B (*birth*) – число родившихся и D (*death*) – число умерших особей за время Δt .

Можно предложить различные законы пополнения, т.е зависимости величин B и D от текущей численности x и промежутка времени Δt .

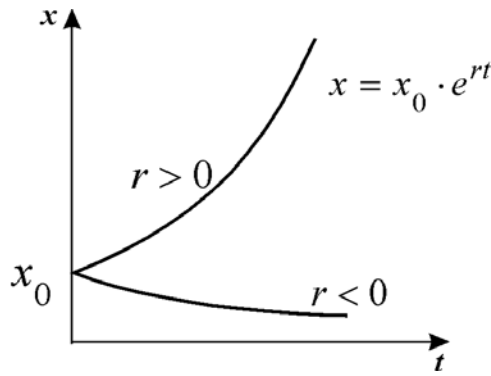


Рис. 2.1. Зависимость численности популяции от времени в модели Мальтуса

Самый простой закон – линейный:

$$B(\Delta t, x) = B(x) \cdot \Delta t = b \cdot x \cdot \Delta t, \quad b > 0, \quad (2.4)$$

и аналогично $D(\Delta t, x) = d \cdot x \cdot \Delta t, \quad d > 0$.

Подставим эти зависимости в формулу для Δx , разделим обе части равенства на Δt и, переходя к пределу при $\Delta t \rightarrow 0$, получим уравнение (2.2):

$$\frac{dx}{dt} = b \cdot x - d \cdot x = (b - d) \cdot x = r \cdot x, \quad (2.5)$$

где $r = b - d$.

Экспоненциальный закон роста популяции при $r > 0$ предполагает, что изолированная популяция существует в условиях неограниченных ресурсов. В природе такие условия встречаются крайне редко. Примером может служить размножение видов, завезенных в места, где имеется много пищи, и отсутствуют конкурирующие виды и хищники. Например, катастрофический рост популяции кроликов или опоссумов, завезенных в Австралию или Новую Зеландию, которые затем привели к гибели большой части урожаев в одном случае или птиц и мелких животных в другом случае.

Поскольку популяции не размножаются до бесконечности, должны существовать факторы, препятствующие неограниченному росту численности. Среди этих факторов может быть нехватка ресурсов (продовольствия), вызывающая конкуренцию внутри популяции за питание, хищничество, конкуренция с другими видами. Результатом является замедление скоро-

сти роста популяции и выход ее численности на стационарный уровень.

Далее мы рассмотрим классические модели ограниченного роста численности.

2.1.2. Модель Ферхюльста. Логистическое уравнение

Рассмотрим еще один пример, который относится к классическим моделям популяционной динамики.

Модель Мальтуса (2.2) с постоянной константой скорости прироста населения r описывает экспоненциальный (т. е. очень быстрый) рост населения x с течением времени. Когда население становится слишком большим, мальтусовская модель перестает быть применимой, и возникающая конкуренция за ресурсы (пищу, деньги и т. д.) должна приводить к уменьшению r .

Другими словами, коэффициент r не должен быть постоянным (как в «жесткой» модели Мальтуса), а может зависеть от x . Вид этой зависимости может быть разнообразным. В такой ситуации принято говорить о «мягкой» модели – модели, поддающейся изменениям за счет выбора функции $r(x)$:

$$\frac{dx}{dt} = r(x)x. \quad (2.6)$$

Естественным шагом усложнения модели является выбор линейной функции $r(x) = r - bx$, что приводит к так называемой *логистической* модели, предложенной бельгийским математиком Пьером Франсуа Ферхюльстом (Verhulst, 1838 г.) [90, 91]:

$$\frac{dx}{dt} = (r - bx) \cdot x = rx - bx^2 = r \cdot x \left(1 - \frac{x}{K}\right), \quad (2.7)$$

где $K = \frac{r}{b}$.

П.Ф. Ферхюльст высказал догадку, что в случае очень быстрого роста населения должны включаться механизмы саморегуляции. Квадратичный член в правой части уравнения отражает внутреннюю конкуренцию за ресурсы, которая ограничивает рост популяции.

Это уравнение можно решить аналитически методом разделения переменных (предлагается выполнить это самостоятельно, см. задания для самостоятельной работы).

Легко убедиться, что $x = 0$ и $x = K$ – стационарные решения (точки покоя) уравнения.

Решение, соответствующее начальным условиям $x(0) = x_0 \geq 0, x(0) \neq K$, удовлетворяет уравнению:

$$\frac{x}{K - x} = \frac{x_0}{(K - x_0)} e^{rt}. \quad (2.8)$$

При $x_0 > 0$ решение может быть выписано в явном виде:

$$x(t) = K \cdot \frac{1}{1 + \left(\frac{K}{x_0} - 1\right) \cdot e^{-rt}}. \quad (2.9)$$

Нормированная S -образная логистическая кривая или логит-кривая, принимающая значения в интервале $(0, 1)$, имеет уравнение

$$x(t) = \frac{1}{1 - e^{-t}}.$$

Графики логистических кривых (2.9) при различных начальных значениях x_0 представлены на рисунке 2.2.

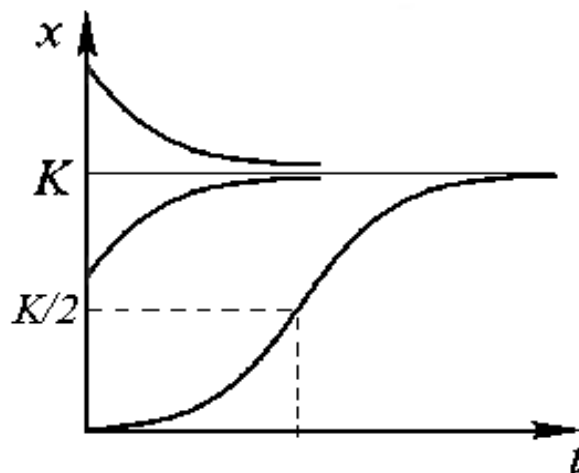


Рис. 2.2. Зависимость численности популяции от времени в модели Ферхюльста

Если начальное значение $x_0 < K/2$, кривая численности имеет S -

образный вид с точкой перегиба при $x_0 = K/2$ и асимптотой $x = K$. При малых x численность популяции возрастает экспоненциально, как в уравнении Мальтуса, при $x > K/2$ — скорость роста постепенно снижается и численность популяции приближается к пределу K . Если $x_0 > K$, численность популяции со временем убывает и тоже стремится к K .

Таким образом, из графика решений видно, что $x = 0$ — неустойчивое положение равновесия, а $x = K$ — устойчивое. Параметр K носит название «емкости популяции» и выражается в единицах численности (или концентрации). Он определяется ограниченностью пищевых ресурсов, доступного объема пространства, многими другими факторами, которые могут быть различными для разных видов.

Таким образом, в отличие от экспоненциальной модели, описывающей либо неограниченный рост численности (при $r > 0$), либо полное вымирание популяции (при $r < 0$), модель Ферхюльста описывает насыщение численности на некотором уровне K .

Примеры экспериментально наблюдаемой динамики популяций, развивающихся по логистическому закону представлены на рисунке 2.3.

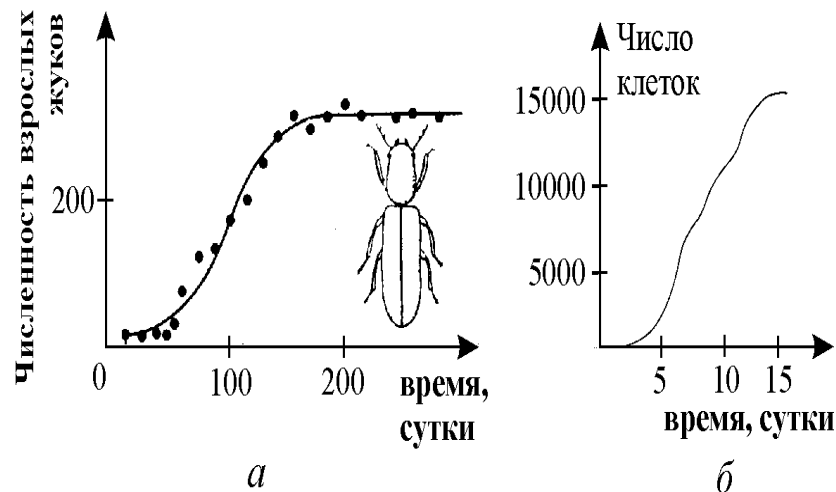


Рис. 2.3. а — жук *Rhizoretha dominica* в 10-граммовой порции пшеничных зерен, пополняемых каждую неделю (Crombie, 1945). б — водоросль *Chlorella* в культуре (Pearsall, Bengry, 1940). Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

Можно было качественно предсказать поведение модели Ферхюльста (2.9), не решая уравнения явно.

Действительно, стационарное уравнение

$$f(x) = r \cdot x \left(1 - \frac{x}{K}\right) = 0$$

– квадратное уравнение, которое имеет два корня:

$$x_1 = 0, x_2 = K$$

– две точки покоя уравнения (2.9). График параболы $y = f(x)$, на котором точкам покоя соответствуют точки пересечения графика с осью абсцисс, представлен на рисунке 2.4.

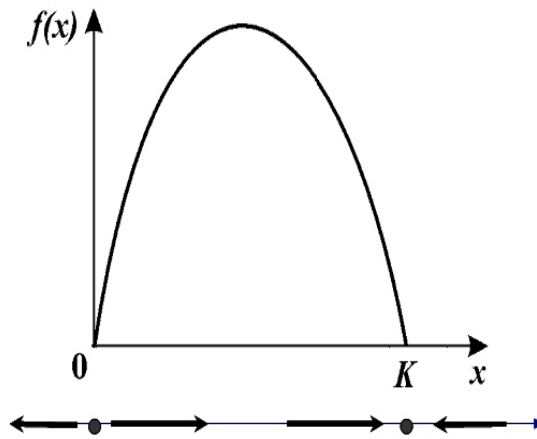


Рис. 2.4. Стационарные состояния логистического уравнения

Проанализируем их на устойчивость. Для этого вычислим производную правой части уравнения в точках покоя.

$$f'(x) = \left(rx\left(1 - \frac{x}{K}\right)\right)' = r\left(1 - \frac{2x}{K}\right). \quad (2.10)$$

Имеем: $f'(0) = r > 0$, следовательно, $x_1 = 0$ – неустойчивая особая точка.

Напротив, $f'(K) = -r < 0$, следовательно, точка покоя $x_2 = K$ – устойчивая.

На следующем рисунке 2.5 показана схема расчета экспериментальных *кривых пополнения*. Разность между двумя кривыми (число рожденных

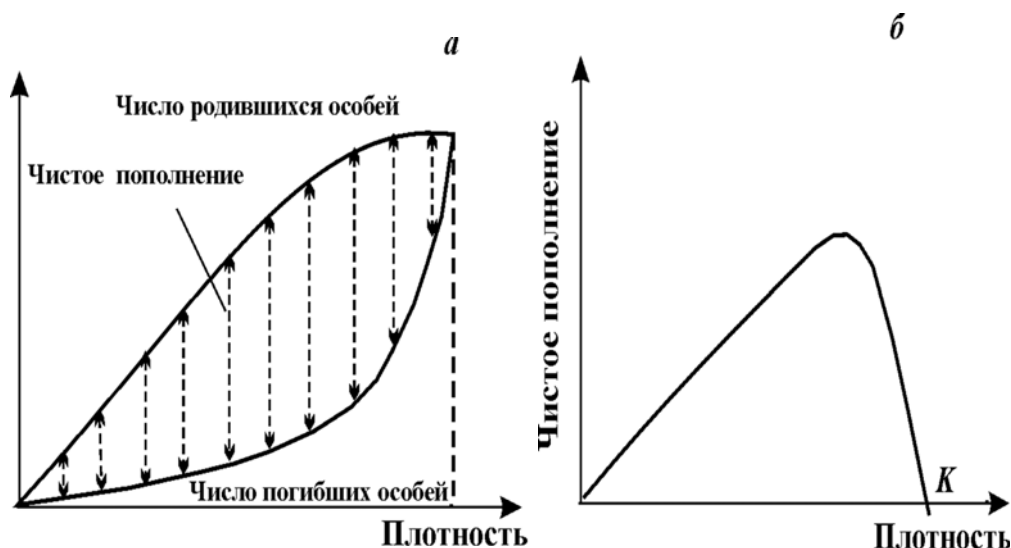


Рис. 2.5. Кривые пополнения. Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

минус число погибших особей) представляет собой число особей, на которое изменится численность популяции за некоторый промежуток времени (т.е. величину, близкую к dx/dt). Видно, что пополнение популяции невелико при достаточно низких значениях численности (или плотности) популяции, возрастает по мере ее увеличения, а затем снова снижается при приближении к предельной численности насыщения, после чего становится отрицательным (когда кривая смертности становится выше кривой рождаемости).

Во многих случаях наблюдается колоколообразная кривая пополнения (см. примеры, приведенные на рис. 2.6), допускающая использования квадратичной функции в правой части уравнения модели, как это имеет место в модели Ферхюльста.

Логистическая модель удовлетворительно описывает явление насыщения в популяционной динамике. Например, население Земли сейчас приближается к 7 миллиардам, а насыщающее значение численности (по разным оценкам) должно составить 16-20 миллиардов человек, т.е. рост численности человека приближается к точке перегиба. Логистическая модель роста популяции имеет два параметра r и K , которые вместе с начальным состоянием x_0 можно оценить на основе реальных данных. Например, Pearl

(1925) использовал данные, полученные в результате переписи населения в нескольких странах (США, Франции, Швеции) за различные периоды времени, и показал их хорошее совпадение с логистической моделью. Для США и Франции этот период покрывал достаточно длительный интервал времени с 1790 г. до 1910-1920 гг. Но, несмотря на это, предсказания о насыщающих численностях населения к середине 2000 г. оказались неправильными, не потому что модель неверна, а потому что данные за более поздние периоды не использовались при выборе параметров (см. более подробно [73]).

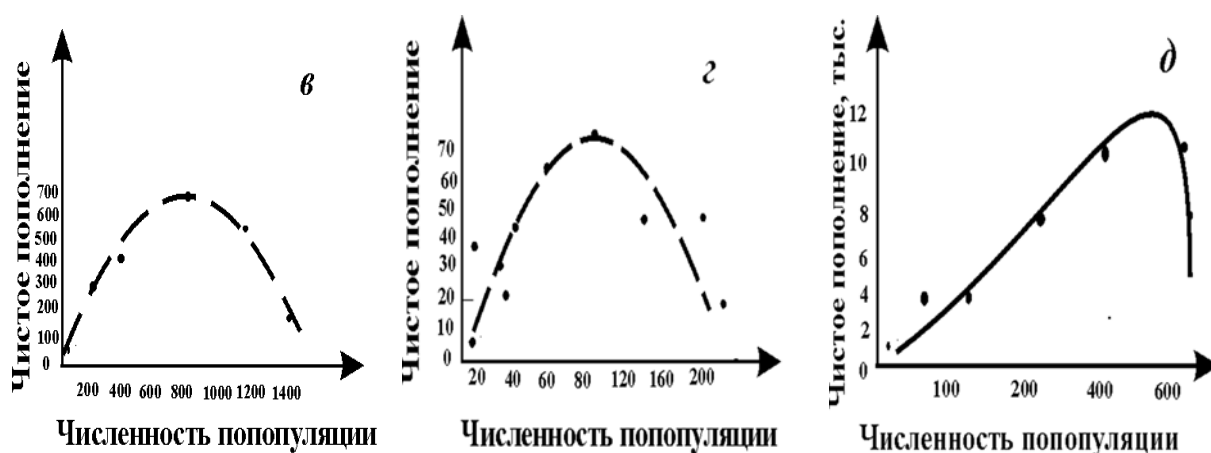


Рис. 2.6. Численность фазана обыкновенного на о. Протекшн-Айленд после его ввоза в 1937 г. (Einarsen, 1945); экспериментальная популяция плодовой мушки *Drosophyla melanogaster* (Pearl, 1927); оценка численности арктического финвала (Allen, 1972). Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

2.1.3. Модель Ферхюльста с эффектом охоты

Логистическая модель является достаточно традиционной в экологии. Например, x может представлять собой численность рыбы в некотором водоеме или численность определенного вида животных в некотором районе проживания.

Проанализируем, как скажется на численности этой популяции рыболовство или охота с постоянной интенсивностью c (фиксированной квотой вылова или охоты в единицу времени)

$$\frac{dx}{dt} = rx\left(1 - \frac{x}{K}\right) - c. \quad (2.11)$$

Видно, что модель Ферхюльста – это частный случай модели охоты при $c = 0$ [40].

При небольших значениях параметра $c > 0$ парабола в правой части уравнения немного смещается вниз и сохраняются два стационарных решения модели охоты (2.9), которые смещаются по сравнению с моделью Ферхюльста в точки $A > 0$ и $B < K$ (рис. 2.7).

При этом, анализируя поведения функции $f(x)$, нетрудно увидеть, что тип точек покоя сохраняется: $A > 0$ – неустойчивая точка покоя, а $B < K$ – устойчивая.

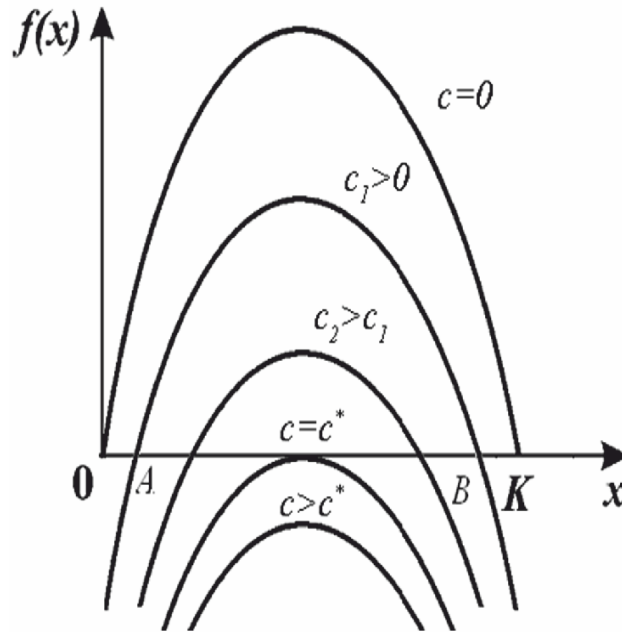


Рис. 2.7. Стационарные значения модели Ферхюльста с эффектом охоты при разных значениях квоты вылова c

Обратим внимание на важное отличие модели охоты при $c > 0$ от модели Ферхюльста ($c = 0$). В модели Ферхюльста при любом ненулевом (даже очень малом) начальном значении численности популяции ($x_0 > 0$) наблюдается ее рост до уровня насыщения K . Добавление охоты приводит к появлению ненулевого критического уровня численности популяции $A > 0$, при попадании ниже которого ($x_0 < A$) численность со временем убывает и достигает нуля за конечное время T (т.е. $x(T) = 0$ и популяция вымирает, рис. 2.8а)!

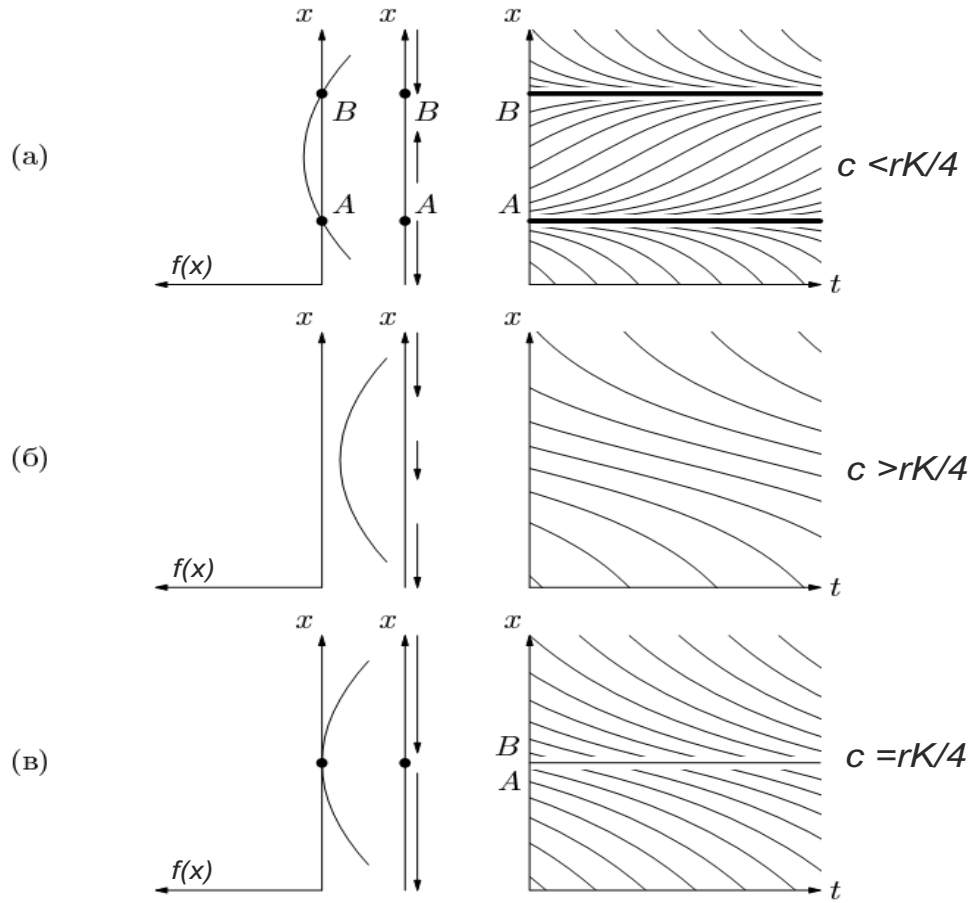


Рис. 2.8. Поведение модели охоты при различных значениях параметра c . На левой панели изображен график функции $f(x)$. В центре изображено векторное поле на изображающей всевозможные состояния системы оси x . A, B – стационарные значения модели. На правой панели изображена результирующая зависимость численности популяции от времени. Иллюстрации заимствованы из монографии В.И. Арнольда [5]

При начальных значениях выше критического уровня ($x_0 > A$) модель охоты дает решения, аналогичные модели Ферхюльста, только стационарное значение численности несколько снижается по сравнению с ситуацией при отсутствии охоты (рис. 2.8а).

Такая же качественная картина сохраняется при увеличении параметра охоты c (рис. 2.7). При этом стационарные значения $A > 0$ и $B < K$ приближаются друг к другу.

Видно, что при некотором критическом значении квоты вылова c^* две точки покоя $A > 0$ и $B < K$ сольются в одну, совпадающую с вершиной

параболы $x = K/2$ (рис. 2.8в). Отсюда нетрудно найти значение c^* :

$$c^* = r \frac{K}{2} \left(1 - \frac{K/2}{K}\right) = \frac{1}{4} r K. \quad (2.12)$$

Другими словами, при критическом значении параметра охоты c^* фаза нарастания численности популяции исчезает. Либо при $x_0 < K/2$ вид вымирает за конечное время, либо при $x_0 > K/2$ численность постепенно снижается до стационарного уровня $\bar{x} = K/2$ (рис. 2.8). Другими словами, качественное поведение возможных решений модели при $c = c^*$ существенно отличается от таковых при $0 < c < c^*$.

При переходе через критический порог вылова при $c > c^*$, картина снова критически меняется. Точка покоя системы исчезает и, поскольку $f(x) < 0$ при всех $x > 0$, численность вида уменьшается до нуля за конечное время при любой начальной численности x_0 (рис. 2.8).

Анализ модели охоты показывает, что выбор значения параметра охоты c является чрезвычайно важным параметром управления численностью популяции x . С одной стороны, стремясь к увеличению дохода, пропорционального квоте эксплуатации c , нельзя превосходить критический уровень квоты c^* , за которым наступает точка невозврата системы, и численность популяции неуклонно уменьшается вплоть до полного уничтожения. С другой стороны, максимальный доход от охоты достигается именно при $c = c^*$, что, как мы показали выше, приводит к потере устойчивости положения равновесия системы и возможности полного исчезновения вида при переходе через критический уровень численности.

Таким образом, мы видим, что поведение системы при критическом значении параметра $c = c^*$ существенно отличается от ее поведения при других значениях параметра, либо при $0 < c < c^*$, либо при $c > c^*$.

Если записать совокупность моделей с учетом явной зависимости от параметра c в виде:

$$\frac{dx}{dt} = f(x; c), \quad (2.13)$$

то говорят, что при $c \neq c^*$ модель является *грубой* или *структурно устой-*

чивой, поскольку малые изменения параметра не приводят к существенному изменению качественной структуры фазового портрета системы, т.е. не меняют числа и типа точек покоя, вида фазовых траекторий и т.п. В случае $c = c^*$ модель является *негрубой* или *структурно неустойчивой*, поскольку как угодно малые изменения параметра (либо его уменьшение, либо увеличение) нарушают качественную структуру ее решений.

В нашем случае, при переходе через критическое значение параметра c^* меняется число точек покоя – либо их число удваивается, либо они исчезают. Такое значение параметра называется *бифуркационным* (бифуркация – раздвоение), а тип данной бифуркации называется складкой.

Обратим внимание, что для всех значений параметра $0 < c \neq c^*$ производная правой части $f(x)$ в точках покоя \bar{x} (если таковые имеются) отлична от нуля ($f'(\bar{x}) \neq 0$), т.е. это регулярные точки покоя. Особенность $c = c^*$ связана с тем, что при этом значении параметра появляются нерегулярные точки покоя, для которых $f'(\bar{x}) = 0$ (см. рис. 2.8).

С одной стороны, биологическая система, как правило, должна обладать свойством структурной устойчивости, т.е. работать в таком диапазоне параметров, малые флуктуации которых не приводят к существенному изменению поведения и состояния системы. С другой стороны, необходимо знать бифуркационные значения параметров системы, в окрестности которых она легко может быть переведена из одного структурно устойчивого в существенно другое структурно устойчивое состояние.

Более подробно вопросы структурной устойчивости и бифуркационных параметров моделей мы рассмотрим в разделе 4, посвященном триггерным свойствам биологических систем.

Обратим внимание на еще один важный содержательный аспект выбора модели квотирования охоты [6]. Анализ особенностей модели с постоянной квотой позволяет предложить компромиссный оптимальный способ управления охотой, сохраняющий устойчивость точки покоя системы. Следует, например, заменить жесткое планирование обратной связью. Иными словами, решение о величине эксплуатации (квоты вылова, налогового пресса

и т. д.) следует принимать не директивно ($c = const$), а в зависимости от достигнутого состояния системы, например, так: $c = kx$, где параметр k («дифференциальная квота») подлежит выбору.

В этом случае модель принимает вид: (рис. 2.9)

$$\frac{dx}{dt} = rx\left(1 - \frac{x}{K}\right) - kx. \quad (2.14)$$

В этом случае, при всех начальных значениях численности популяции с течением времени устанавливается стационарное состояние B (точка пересечения параболы $y = rx\left(1 - \frac{x}{K}\right)$ и прямой $y = kx$), которое устойчиво (рис. 2.9). Средний доход от охоты, пропорциональный величине $c = kx$, будет наибольшим, когда прямая $y = kx$ проходит через вершину параболы $y = rx\left(1 - \frac{x}{K}\right)$, т. е. при $k^* = 1/2 \cdot r$.

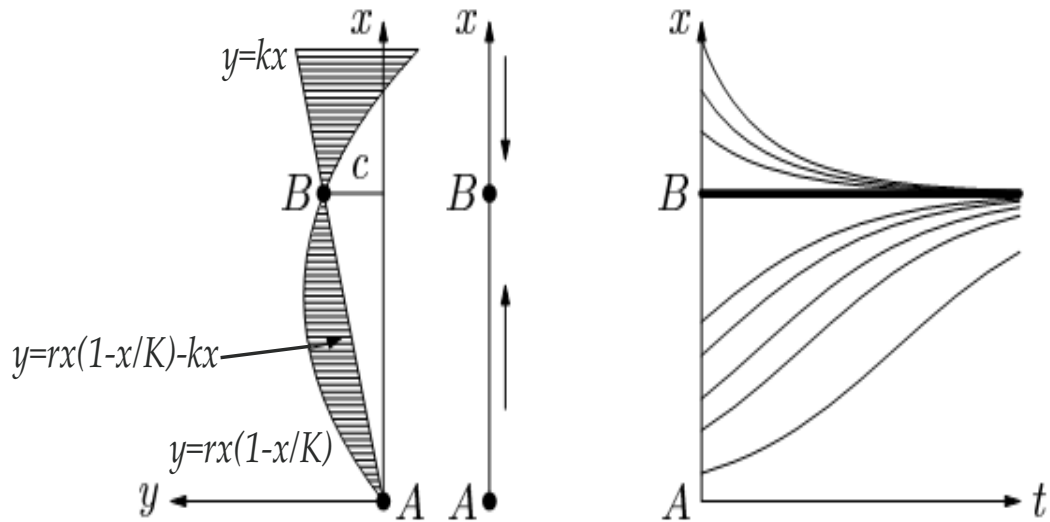


Рис. 2.9. Планирование обратной связи в модели рыболовства. Иллюстрации заимствованы из монографии В.И. Арнольда [5]

Замечательно, что при одинаковом уровне оптимального дохода $c^* = k^* \cdot \bar{x} = 1/4 \cdot rK$ система с обратной связью устойчива в отличие от жестко планируемой системы охоты при оптимальном значении коэффициента k^* , так что небольшое случайное уменьшение численности популяции по отношению к стационарному уровню $\bar{x} = K/2$ приводит к снижению уровня отлова и автоматическому восстановлению стационарного уровня силами

самой системы.

Кроме того, небольшое отклонение коэффициента k от оптимального значения k^* приводит не к самоуничтожению системы (как это было при небольшом превышении оптимального жесткого плана c^*), а лишь к небольшому уменьшению «дохода».

Итак, введение обратной связи (т. е. зависимости принимаемых решений от реального состояния дел, а не только от идеальных планов) стабилизирует систему, которая без обратной связи разрушилась бы при оптимизации управляемых параметров.

2.2. Дискретные модели популяционной динамики

Допустим, наблюдатель имеет возможность регистрировать изменения численности популяции не непрерывно во времени, а через некоторые дискретные временные интервалы. В этом случае для моделирования изменения численности могут быть более удобными не ОДУ с непрерывным временем t , а разностные уравнения с дискретным временем $\{t_0, t_1, t_2, \dots\}$.

Пусть численность популяции N_t в момент времени t_n зависит от численности в некоторые предшествующие моменты времени $\{t_{n-j}\}, j = \overline{1, k}$. Эта связь может быть описана при помощи разностного уравнения:

$$N_t = F(N_{t-1}, N_{t-2}, \dots, N_{t-k}). \quad (2.15)$$

В частности, численность каждого следующего поколения популяции N_{t+1} зависит лишь от численности предыдущего поколения N_t . Это, например, справедливо для многих видов насекомых. Их взрослые особи живут непродолжительное время, достаточное для откладывания яиц, и к моменту появления на свет нового поколения предшествующее поколение прекращает свое существование. Про эти виды можно сказать, что поколения в них не перекрываются во времени, и уравнение (2.15) может быть записано в виде:

$$N_{t+1} = f(N_t). \quad (2.16)$$

Далее мы продемонстрируем одно принципиально важное отличие дискретных моделей от непрерывных. В отличие от непрерывных скалярных уравнений, в дискретных моделях при определенных условиях мы можем получить не только монотонные решения, но и колебательные процессы и даже так называемый детерминированный хаос.

2.2.1. Дискретное логистическое уравнение

Заменяем непрерывное время в логистическом уравнении (2.7) на дискретное с условным временным интервалом $\Delta t = 1$ [91]. Заметим, что

$$dN/dt \approx \frac{\Delta N}{\Delta t},$$

где $\Delta N = N_{t+1} - N_t$.

Получим следующее разностное уравнение:

$$N_{t+1} = N_t \cdot \left(1 + r\left(1 - \frac{N_t}{K}\right)\right). \quad (2.17)$$

Однако уравнение (2.17) может, в отличие от непрерывного, давать биологически некорректные результаты. Например, если $N_t > K(1 + r)/r$, то уравнение (2.17) дает отрицательное значение N_{t+1} (рис.2.10).

Перепишем уравнение (2.12) в более общем виде:

$$N_{t+1} = N_t \cdot \varphi(N_t)$$

Можно в качестве $\varphi(N_t)$ взять функцию, асимптотически стремящуюся к нулю при $N \rightarrow \infty$, например, экспоненциальную функцию (рис. 2.10)

$$N_{t+1} = N_t \exp\left(r\left(1 - \frac{N_t}{K}\right)\right). \quad (2.18)$$

Напомним некоторые сведения из теории разностных уравнений, позволяющие проанализировать модели вида (2.16) и, в частности, модель (2.18).

Решением уравнения (2.16) называется числовая последовательность

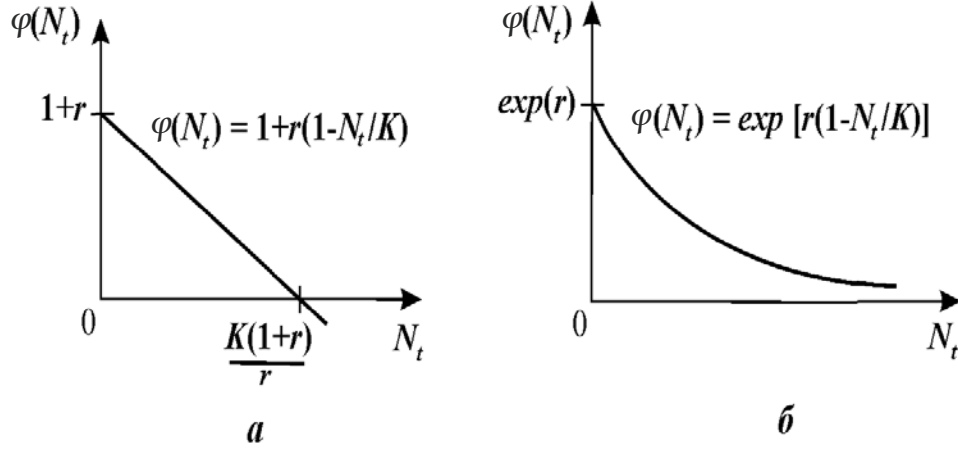


Рис. 2.10. Вид функции для дискретного аналога логистического уравнения: (а) $\varphi(N_t) = 1 + r(1 - \frac{N_t}{K})$, (б) $\varphi(N_t) = \exp(r(1 - \frac{N_t}{K}))$. Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

$N_t, t = 0, 1, \dots$, удовлетворяющая данному уравнению при любом t . Разным начальным значениям соответствуют различные решения.

Равновесием называется решение вида $N_t = \text{const} = N^*$, удовлетворяющее уравнению:

$$N^* = f(N^*). \quad (2.19)$$

Как и в случае дифференциальных уравнений, для исследования устойчивости применим линейный анализ. Пусть

$$N_t = N^* + x_t.$$

Линеаризуем уравнение (2.16), разлагая f в ряд по степеням x_t :

$$N_{t+1} = N^* + x_{t+1} = f(N^*) + \frac{df}{dN}|_{N^*} \cdot x_t + O(x_t^2)$$

Учтя, что N^* удовлетворяет уравнению (2.19) и, отбрасывая члены порядка x_t^2 , получим линейное разностное уравнение первого приближения для (2.16):

$$x_{t+1} = \frac{df}{dN}|_{N^*} \cdot x_t. \quad (2.20)$$

Обозначим $a = \frac{df}{dN}|_{N^*} \neq 0$, имеем:

$$x_{t+1} = a \cdot x_t$$

Из условий сходимости геометрической прогрессии следует, что:

$$x_t \rightarrow 0 \text{ при } t \rightarrow \infty, \text{ если } 0 < |a| < 1,$$

и соответствующее положение равновесия N^* для (2.16) – устойчиво.

Напротив,

$$x_t \rightarrow \infty \text{ при } t \rightarrow \infty, \text{ если } |a| > 1,$$

и соответствующее положение равновесия N^* для (2.16) – неустойчиво.

Случаи $|a| = 1$ и $a = 0$ требуют дополнительного исследования членов более высокого порядка в разложении.

В случае устойчивого равновесия наблюдаются следующие переходные процессы (рис. 2.11):

- при $0 < a < 1$ решение монотонно стремится к положению равновесия,
- при $-1 < a < 0$ возникают затухающие колебания вокруг N^* .

В случае неустойчивого равновесия возможны различные сценарии поведения решения.

Рассмотрим уравнение (2.18). Найдём для него точки равновесия из уравнения:

$$N = N \cdot \exp(r(1 - \frac{N}{K})).$$

Понятно, что $N^* = 0$ – это положение равновесия.

Невырожденное равновесие найдём из эквивалентного уравнения:

$$\exp(r(1 - \frac{N}{K})) = 1,$$

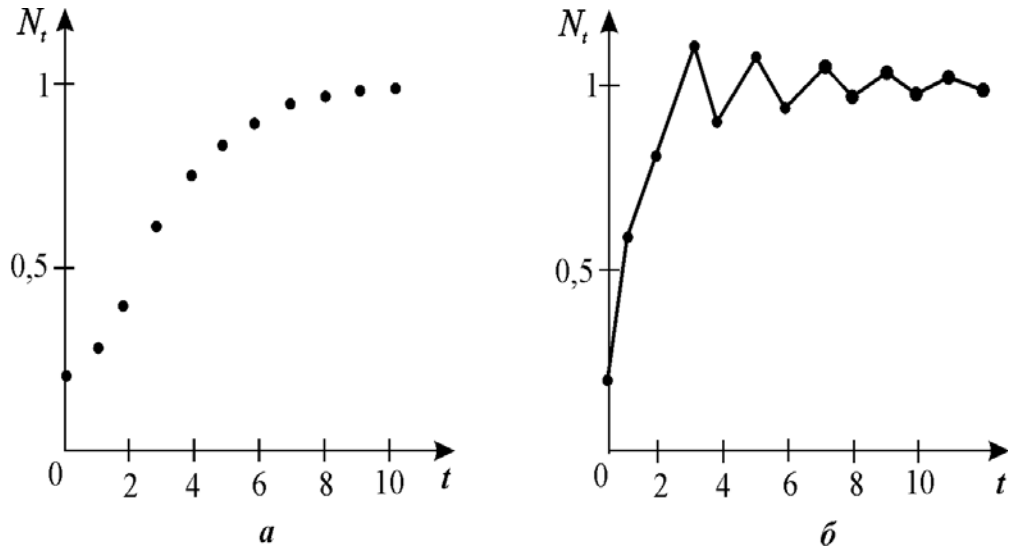


Рис. 2.11. Графики численности популяции в модели (2.18). При $0 < r < 2$ – равновесие устойчиво: а) при $0 < r < 1$ – монотонный рост, б) при $1 < r < 2$ – затухающие колебания. Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

откуда следует, что имеется единственное ненулевое положение равновесие

$$N^* = K > 0,$$

которое существует при любом r .

Исследуем состояния равновесия на устойчивость. Вычислим производные в точках покоя.

$$\frac{df}{dN} = \left(N \cdot \exp\left(r\left(1 - \frac{N}{K}\right)\right) \right)' = \exp\left(r\left(1 - \frac{N}{K}\right)\right) \left(1 - \frac{r}{K}N\right).$$

Во-первых:

$$f'(0) = e^r > 1, r > 0$$

значит, как и в непрерывной модели Ферхюльста, $N^* = 0$ – неустойчивая точка покоя.

Во-вторых:

$$f'(K) = 1 - r,$$

следовательно, в отличие от непрерывной модели, $N^* = K$ может быть как устойчивой, так и неустойчивой точкой покоя:

1. при $0 < r < 2$ – равновесие устойчиво, при этом решение монотонно

при $0 < r < 1$ или представляет собой затухающие колебания при $1 < r < 2$ (см. рис. 2.11);

2. при $r \geq 2$ возможны различные сценарии поведения решения, в частности, появляются характерные колебания (циклы) с удваивающимся числом чередующихся стационарных значений при увеличении параметра r (см. примеры 2-х, 4-х и т.д. точечных циклов на рис. 2.12), а при дальнейшем увеличении параметра r могут наблюдаться квазихаотические решения уравнения (см. рис. 2.13).

Более подробно этот пример рассматривается в книге [73].

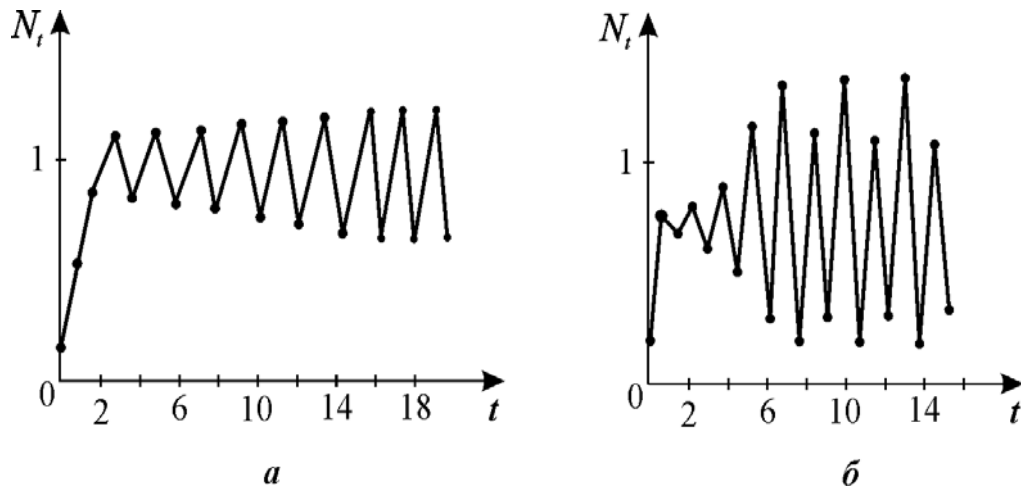


Рис. 2.12. Циклическое поведение решения уравнения (2.18), а — двухточечный цикл, б — четырёхточечный цикл. Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

Таким образом, рассмотренные примеры дискретных моделей показывают, что в отличие от непрерывной модели, описываемой скалярным уравнением, дискретные скалярные модели обладают большим разнообразием возможных типов поведения, вплоть до псевдохаотических (детерминированный хаос). Это происходит за счет скачкообразных изменений значений функции в правой части уравнения при дискретном изменении времени, в то время как в непрерывной модели (при непрерывной правой части уравнения) состояние меняется гладко за счет рассмотрения бесконечно малых

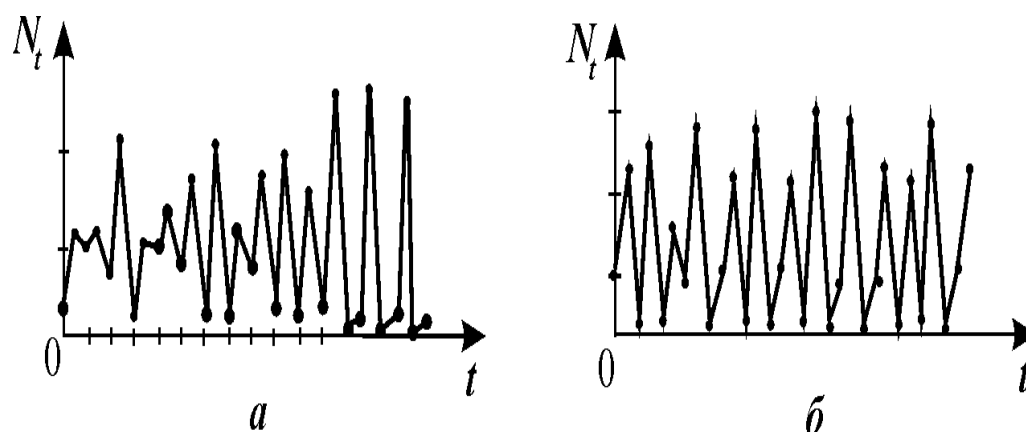


Рис. 2.13. Примеры квазистохастических решений для уравнения (2.18). Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

изменений непрерывно текущего времени, что не допускает скачков состояния системы.

Для того, чтобы непрерывная модель могла воспроизводить колебательные режимы поведения системы или детерминированный хаос, в этой модели должны быть взаимодействующие переменные, влияние которых друг на друга позволяет нарушать монотонность процессов. Другими словами, вместо одного ОДУ должна быть выписана система ОДУ. Примеры таких систем будут рассмотрены в последующих главах.

Другой тип моделей, позволяющих описывать колебательные процессы в рамках непрерывных скалярных уравнений, – это функционально-дифференциальные уравнения, чаще называемые уравнениями с запаздыванием, в которых состояние в текущий момент времени зависит от предистории процесса на некотором предшествующем промежутке времени. Такие модели часто используются для моделирования развития заболеваний, иммунного ответа и др. Однако, рассмотрение такого сорта моделей выходит за рамки настоящего курса.

3. КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ

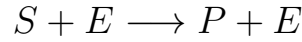
3.1. Моделирование биохимических реакций. Ферментативная кинетика

3.1.1. Кинетика ферментативных реакций

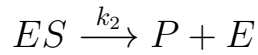
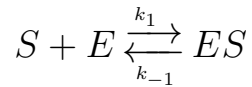
Обмен веществ в организме можно определить как совокупность всех химических превращений, которым подвергаются соединения, поступающие извне или продуцируемые самим организмом. Эти биохимические реакции протекают с чрезвычайно большой скоростью благодаря участию катализаторов – белков, которые называются **ферментами** (от лат. *fermentum* – закваска, это название чаще используется в литературе на немецком или русском языках) или **энзимами** (от греч. ζυμη, ενζυμων – закваска, дрожжи) – в англо- и франко-язычных источниках). Реагенты в реакции, катализируемой ферментами, называются **субстратами**, а получающиеся вещества – **продуктами**. Ферменты высоко специфичны к субстратам (например, АТФаза катализирует расщепление только АТФ, а киназа фосфоорилазы фосфорилирует только фосфоорилазу). Ферменты увеличивают скорость химической реакции, но сами при этом не расходуются.

Ферменты выступают в роли катализаторов практически во всех биохимических реакциях (более 4000), протекающих в живых организмах, направляя и регулируя обмен веществ организма. Известно более 3000 ферментов, они делятся на 6 классов по типу катализируемой реакции. В частности, *гидролазы* – катализируют реакции гидролиза, т.е. расщепления веществ с присоединением по месту разрыва связи воды. К этому классу относятся преимущественно пищеварительные ферменты, например, амилаза, сахараза, мальтаза, – гликозидазы, которые расщепляют гликозидные связи в молекулах поли- и олигосахаридов. *Трансферазы* – катализируют перенос различных радикалов от молекулы донора к молекуле акцептору, например, фосфоорилаза, катализирующая отщепление молекулы глюкозы от гликогена.

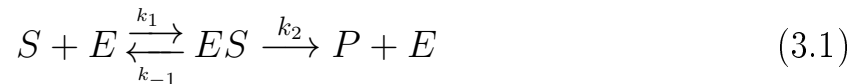
Рассмотрим простейшую ферментативную реакцию, в которой участвует одна молекула фермента (E) и одна молекула субстрата (S), и при этом продуцируется одна молекула продукта (P) [24]:



Промежуточной стадией этой реакции является образование-распад фермент-субстратного комплекса (ES), поэтому реакция может быть схематически представлена в виде двух стадий:



Объединив обе стадии, можно представить схему реакции в следующем виде:



Классическим примером количественного описания такой ферментативной реакции является модель Михаэлиса-Ментен (1913 г.), к которой они пришли, обобщив свои наблюдения над кинетикой действия фруктофуранозидазы [70].

Рассмотрение этой модели является важным со многих точек зрения. Во-первых, будет показано, как записываются уравнения химической кинетики, т.е. кинетики взаимодействия веществ, при котором образуются и распадаются комплексы (в данном случае фермент-субстратный комплекс), происходят преобразования веществ из одного состояния в другое, и, следовательно, происходит изменение во времени концентраций всех компонентов реакции – фермента, субстрата, их комплекса и, наконец, продукта. Далее, будет проведено обезразмеривание переменных, что является важным этапом построения модели, позволяющим, в частности, выявить иерархию времен в рассматриваемой системе и определить так называемые быстрые и медленные процессы и, соответственно, переменные модели.

Далее, будет показано, как с учетом временной иерархии переменных конструктивно редуцировать систему, используя так называемую псевдостационарную систему. И, наконец, на примере модели фермент-субстратной реакции, мы обсудим вычислительные аспекты реализации модели, содержащей быстрые и медленные переменные, и убедимся в преимуществах использования редуцированной системы не только для качественного анализа рассматриваемых процессов, но и с точки зрения эффективности проводимых вычислений. Все перечисленные этапы построения модели – выбор ключевых переменных, количественно характеризующих поведение системы, написание уравнений, обезразмеривание, редукция системы, выбор вычислительных методов для компьютерной реализации модели, являются необходимыми этапами моделирования любого сложного биологического объекта.

3.1.2. Скорость химических реакций

В ходе химической реакции вещество A превращается в вещество B . За единицу времени в ходе реакции преобразуется x молекул (или граммов) вещества A и возникает соответствующее количество вещества B . Поэтому было бы естественно определить скорость химической реакции как число молекул, превращающихся за единицу времени. При этом, конечно, следует рассматривать изменение количества вещества в единичном объеме эффективного пространства, где протекает реакция, поэтому вместо масс возникают величины концентраций.

Скорость реакции – это изменение концентрации вещества, участвующего в реакции, в единицу времени.

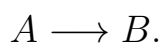
Концентрацию веществ, характеризующую число молекул в единице объема, чаще всего выражают в единицах «моль на литр» (будем далее использовать обозначение M), при этом количество молекул в одном моле любого вещества постоянно и равно числу Авогадро $N_A \sim 6.02 \times 10^{23}$. Для обозначения концентраций веществ обычно используют квадратные скобки, например, концентрация вещества A обозначается как $[A]$.

С уменьшением концентрации реагирующих веществ по ходу реакции будет уменьшаться и число молекул этих веществ, и соответственно число преобразований, сопутствующих реакции. Следовательно, скорость по мере прохождения реакции будет падать. Для одного и того же химического превращения скорость реакции, измеренная в разные моменты времени, будет величиной различной, определяющейся концентрациями веществ в текущий момент измерения. Поэтому скорость химической реакции не является величиной постоянной и также меняется во времени.

3.1.3. Закон действующих масс

Фундаментальный закон, связывающий скорость реакции с концентрациями реагирующих веществ, — это **закон действующих масс (ЗДМ)**. Согласно нему скорость реакции пропорциональна произведению концентраций реагентов. В отличие от фундаментальных физических законов, этот закон является феноменологическим, т.е. описывает в виде формулы многочисленные наблюдения, сделанные в процессе наблюдения за реакциями самого разного типа с участием самых разнообразных веществ.

В простейшем случае рассмотрим преобразование одного вещества A в другое вещество B :



Естественно предположить, что количество превращений вещества A в B в единицу времени тем больше, чем выше концентрация вещества A , поэтому можно записать

$$\frac{d[B]}{dt} \sim [A] = k[A], \quad (3.2)$$

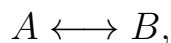
где $d[B]/dt$ — это мгновенная скорость изменения $[B]$, k — коэффициент пропорциональности, называемый константой скорости реакции. Знак $\langle + \rangle$ указывает на то, что вещество B возникает в процессе реакции и его концентрация возрастает. Если размерность $[B]$ — моль на литр (M), размерность времени t — секунды (c), то размерность $d[B]/dt$ — (M/c) и раз-

мерность k – обратные секунды (c^{-1}). Аналогичное уравнение, только с противоположными знаками записывается для $[A]$:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A].$$

Знак $\langle - \rangle$ указывает на то, что вещество A расходуется в процессе реакции и его концентрация убывает.

Если реакция обратима, т.е.



то в уравнениях для $[A]$ и $[B]$ появится слагаемое, пропорциональное $[B]$:

$$\frac{d[B]}{dt} = +k_A[A] - k_B[B]. \quad (3.3)$$

Здесь k_A k_B – константы скоростей прямой и обратной реакций.

Аналогичное уравнение, только с противоположными знаками записывается и для $[A]$:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_A[A] + k_B[B].$$

Если предположить, что в этой реакции нет никаких других превращений и вещества ниоткуда более не поступают и не выводятся, то в соответствии с законом сохранения суммарное количество вещества в этой реакции не меняется и определяется суммой начальных концентраций веществ. Действительно, если сложить $d[A]/dt$ и $d[B]/dt$, то их сумма будет тождественно равна нулю и следовательно

$$\frac{d([A] + [B])}{dt} = 0,$$

откуда

$$[A] + [B] \equiv const = [A]_0 + [B]_0,$$

где $[A]_0$, $[B]_0$ – концентрации веществ в начальный момент времени.

Это соотношение позволяет выразить одну концентрацию через другую и вместо двух уравнений рассматривать одно.

Пусть, например, в начале реакции вещество B отсутствует, т.е. $[B]_0 = 0$, тогда

$$[A] + [B] \equiv [A]_0.$$

Сделав в правой части уравнения (3.3) замену $[A] = [A]_0 - [B]$, получим:

$$\frac{d[B]}{dt} = k_A([A]_0 - [B]) - k_B[B] = k_A[A]_0 - (k_A + k_B)[B]. \quad (3.4)$$

Через некоторое время реакция придет в стадию равновесия, когда скорости изменения $[A]$ и $[B]$ будут равны нулю. Приравняв правую часть уравнения (3.4) к нулю, получим соотношение для стационарного значения $[B]$:

$$[B] = \frac{k_A}{k_A + k_B} [A]_0. \quad (3.5)$$

Поделим числитель и знаменатель дроби на k_A и, обозначив $K = k_B/k_A$ (K – безразмерная величина), перепишем формулу (3.5) в виде:

$$[B] = \frac{1}{1 + K} [A]_0. \quad (3.6)$$

Здесь K является одной из констант равновесия (аналог константы диссоциации, см. ниже).

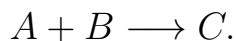
Как нетрудно убедиться, приравняв нулю правую часть уравнения (3.3), справедливо соотношение:

$$K = \frac{[A]}{[B]}, \quad (3.7)$$

т.е. K , будучи отношением констант скоростей распада (диссоциации) и образования B , дает оценку соотношения равновесных концентраций исходного вещества A и продукта реакции B .

Рассмотрим теперь более интересный случай, когда вещество C образуется при взаимодействии веществ A и B . Пусть для начала реакция явля-

ется необратимой:



В системе, содержащей молекулы двух веществ A и B , происходят соударения видов $A + A$, $B + B$, $A + B$. При этом к химической реакции может привести только третий тип столкновений. Подсчитаем их число в единицу времени. Число столкновений, испытываемых молекулами вещества A , должно быть пропорционально их концентрации. То же самое можно сказать и о веществе B . Таким образом, частота соударений третьего вида пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ $[A]$, $[B]$.

Это заключение и отражает суть закона действующих масс, который записывается в виде уравнения:

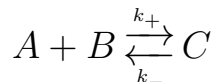
$$\frac{d[C]}{dt} \sim [A][B] = k[A][B] \quad (3.8)$$

Остановимся подробнее на смысле параметра k . Химические реакции принято характеризовать скоростями, отнесенными к единичным концентрациям реагирующих веществ. Из уравнения (3.8) видно, что константа скорости k , которая является фундаментальной характеристикой химической реакции, равна значению скорости реакции при единичных концентрациях реагентов. Обычно константы скорости пишутся в схемах реакции над соответствующими стрелками, указывающими направление реакции: \xrightarrow{k} (см., например, схему фермент-субстратной реакции приведенную выше (3.1)).

Размерность величины k определяется формой реакции. Так, в уравнении (3.3) для одно-молекулярной реакции k имеет размерность c^{-1} , а в уравнении (3.8) для бимолекулярной реакции он имеет размерность $(M^{-1}c^{-1})$. Таким образом, константа скорости реакции не зависит ни от выбранного объема системы, ни от концентрационных условий проведения реакции и является индивидуальной характеристикой реакции. Этот

коэффициент пропорциональности зависит от физико-химических свойств самих реагентов, а также температуры среды (раствора).

Если реакция обратима, и константы скорости прямой и обратной реакций — k_+ и k_- , соответственно, то схема реакции приобретает вид:



Соответствующее этой схеме уравнение имеет вид:

$$\frac{d[C]}{dt} = k_+[A][B] - k_-[C]. \quad (3.9)$$

Аналогичные уравнения выписываются для A и B , только с противоположными знаками, например,

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_+[A][B] + k_-[C].$$

Уравнение (3.9) позволяет получить соотношение для стационарных концентраций веществ. Приравняв правую часть к нулю (по аналогии с формулой (3.7)), получим:

$$\frac{[A][B]}{[C]} = \frac{k_-}{k_+} = K_d. \quad (3.10)$$

Здесь K_d — это константа диссоциации, равная отношению констант скоростей диссоциации и образования комплекса и, соответственно, отношению произведения стационарных концентраций реагентов к концентрации продукта. Это соотношение будет нами часто использоваться далее для выведения формул скоростей фермент-субстратных реакций. Обратная к K_d величина $K_a = 1/K_d$ называется константой сродства веществ A и B , характеризующей вероятность образования комплекса C при взаимодействии этих веществ.

3.1.4. Фермент-субстратная реакция Михаэлиса—Ментен

Вернемся к фермент-субстратной реакции, схема которой была представлена выше (см. (3.1)). В соответствии с этой схемой субстрат S , взаимодействуя с ферментом, образует комплекс ES , который претерпевает

химическое превращение, в результате чего образуется продукт и высвобождается фермент. Таким образом, катализатор, прокручивая реакцию, не расходуется и через определенное время снова готов к последующим каталитическим циклам.

Для краткости обозначим концентрации реагентов малыми буквами: $s = [S]$, $e = [E]$, $c = [ES]$, $p = [P]$.

В соответствии с законом действующих масс и по аналогии с уравнениями (3.3), (3.9) выпишем систему уравнений реакции :

$$\begin{aligned}\frac{ds}{dt} &= -k_1 e \cdot s + k_{-1} c, \\ \frac{de}{dt} &= -k_1 e \cdot s + k_{-1} c + k_2 c, \\ \frac{dc}{dt} &= k_1 e \cdot s - k_{-1} c - k_2 c, \\ \frac{dp}{dt} &= k_2 c.\end{aligned}\tag{3.11}$$

Рассмотрим следующие начальные условия для системы (3.11). Пусть в начальный момент времени имеем следующее распределение концентраций веществ:

$$s(0) = s_0 > 0, \quad e(0) = e_0 > 0, \quad c(0) = 0, \quad p(0) = 0,\tag{3.12}$$

т.е. начальные концентрации комплекса c и продукта p равны нулю.

Заметим, что последнее уравнение в системе (3.11) отличается от первых трех тем, что переменная p не входит в правую часть дифференциального уравнения, т.е. p может быть найдено прямым интегрированием функции, стоящей в правой части этого уравнения:

$$p(t) = k_2 \int_0^t c(\tau) d\tau,\tag{3.13}$$

т.е. концентрация продукта p полностью определяется концентрацией субстрат-ферментного комплекса c .

Далее, поскольку фермент в реакции не расходуется и может находиться в одном из 2-х возможных состояний – свободном состоянии E или связан-

ном с субстратом ES , то в соответствии с законом сохранения сумма концентраций $e + c$ – постоянная и в соответствии с выбранными начальными условиями равна начальной концентрации фермента e_0

$$e + c = \text{const} = e_0. \quad (3.14)$$

Это же соотношение мы получим, если сложим второе и третье уравнения системы (3.11), правые части которых отличаются только знаками.

Постоянство общего количества фермента позволяет исключить одно из дифференциальных уравнений системы (3.11), заменив алгебраическим:

$$e = e_0 - c.$$

Следовательно, поведение всей системы может быть описано двумя существенными переменными: концентрацией расходуемого субстрата s и концентрацией субстрат-ферментного комплекса c :

$$\begin{aligned} \frac{ds}{dt} &= -k_1 \cdot e \cdot s + k_{-1} \cdot c = -k_1 \cdot (e_0 - c) \cdot s + k_{-1} \cdot c, \\ \frac{dc}{dt} &= k_1 \cdot e \cdot s - (k_{-1} + k_2) \cdot c = k_1 \cdot (e_0 - c) \cdot s - (k_{-1} + k_2) \cdot c. \end{aligned} \quad (3.15)$$

Выпишем единицы измерения величин в системе (3.15).

$$[s], [c] = M; [k_{-1}], [k_2] = c^{-1}; [k_1] = M^{-1}c^{-1} \quad (3.16)$$

Проведем обезразмеривание системы (3.15). В первом уравнении поделим слагаемые слева и справа на $s_0 e_0 k_1$.

Перепишем уравнения системы (3.15) в виде:

$$\frac{ds/s_0}{k_1 \cdot e_0 \cdot dt} = -\frac{k_1}{k_1} \cdot \frac{(e_0 - c)}{e_0} \cdot \frac{s}{s_0} + \frac{k_{-1}}{k_1 \cdot s_0} \cdot \frac{c}{e_0}. \quad (3.17)$$

Второе уравнение аналогично делим на $s_0 k_1 e_0$, и, кроме того, левую часть делим и умножаем на e_0 :

$$\frac{e_o}{s_o} \cdot \frac{dc/e_o}{k_1 \cdot e_o \cdot dt} = \frac{k_1}{k_1} \cdot \frac{(e_o - c)}{e_o} \cdot \frac{s}{s_o} - \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 \cdot s_o} \cdot \frac{c}{e_o}. \quad (3.18)$$

Введем новые безразмерные переменные и параметры:

$$x = \frac{s}{s_o}, \quad y = \frac{c}{e_o}, \quad \tau = k_1 e_o t, \quad (3.19)$$

$$\alpha = \frac{k_{-1}}{k_1 s_o}, \quad \beta = \frac{k_2}{k_1 s_o}, \quad \gamma = \alpha + \beta,$$

$$\varepsilon = \frac{e_o}{s_o}.$$

Заметим, что в обезразмеренной системе переменные x и y изменяются в одинаковом диапазоне значений $[0, 1]$, независимо от соотношения концентраций субстрата и фермента в исходной системе.

В новых обозначениях получим следующую систему:

$$\begin{aligned} \frac{dx}{d\tau} &= -(1 - y) \cdot x + \alpha \cdot y, \\ \varepsilon \cdot \frac{dy}{d\tau} &= +(1 - y) \cdot x - (\alpha + \beta) \cdot y \end{aligned} \quad (3.20)$$

с начальными данными:

$$x(0) = 1, \quad y(0) = 0.$$

Поскольку реакция превращения фермент-субстратного комплекса необратима, уже из схемы реакций ясно, что с течением времени весь субстрат будет превращен в продукт, и в стационарном состоянии концентрации субстрата, и комплекса станут равны нулю: $x = 0$, $y = 0$.

Проанализируем качественно, как ведут себя $x(\tau)$ и $y(\tau)$.

Поскольку $y(0) = 0$, вблизи $\tau = 0$ $dx/d\tau < 0$. Это означает, что $x(\tau)$ уменьшается, начиная с $x = 1$. В то же время $dy/d\tau > 0$, значит, $y(\tau)$ увеличивается, при этом из уравнения (3.20) видно, что наибольшая скорость роста y будет в начальный момент времени, а затем она уменьшается вместе с уменьшением x и ростом y . В некоторый момент времени τ^* скорость $dy/d\tau$ станет равной нулю, и в этой точке будет наблюдаться максимальное

значение $y^* = y(\tau^*)$ (заметим, что $y^* = x^*/(x^* + \gamma)$, где $x^* = x(\tau^*)$). После этого величина $y(\tau)$ будет уменьшаться до нуля. Относительная концентрация свободного фермента $e/e_0 = 1 - y$ сначала убывает, а затем снова возрастает до величины $e/e_0 = 1$, поскольку с течением времени субстрат исчерпывается, и все меньшая доля фермента оказывается связанной.

Кинетические кривые для x , y и e/e_0 изображены на рисунке 5.8.

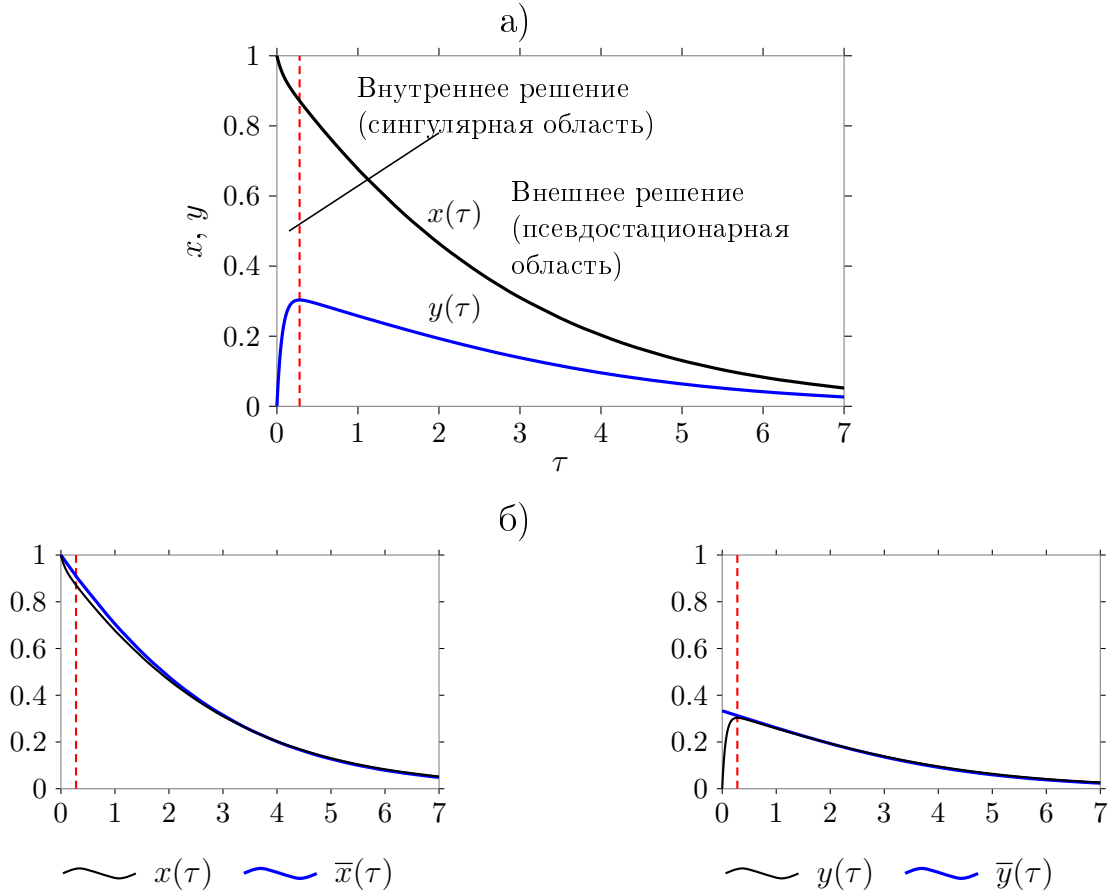


Рис. 3.1. Кинетика безразмерных переменных в фермент-субстратной реакции Михаэлиса-Ментен с учетом (а) и без учета (б) области переходных процессов на малых временах при $\varepsilon = 0.2$, $\alpha = 1$, $\beta = 1$

3.1.5. Редукция фермент-субстратной системы

Как следует из приведенного выше словесного анализа поведения переменных x и y и как показано на рисунке 3.1, $x(\tau)$ и $y(\tau)$ асимптотически стремятся к нулю при выбранных начальных условиях. При этом видно, что на относительно коротком начальном промежутке времени $y(\tau)$ меняется значительно быстрее, чем $x(\tau)$.

Перепишем уравнение для $y(\tau)$ в (3.20) в нормальной форме:

$$\frac{dy}{d\tau} = \frac{1}{\varepsilon} \cdot ((1 - y) \cdot x - \gamma \cdot y), \quad (3.21)$$

и будем рассматривать только значения $x \geq 0, y \geq 0$, допустимые для решений нашей биохимической задачи.

Нетрудно заметить, что почти при всех x и y скорость изменения $y(\tau)$, т.е. правая часть уравнения (3.21), благодаря множителю $1/\varepsilon$ значительно превышает скорость изменения $x(\tau)$ (здесь ε – малый параметр). Другими словами, почти во всех точках фазовой плоскости (x, y) вектор скорости (\dot{x}, \dot{y}) будет направлен почти вертикально (т.к. вторая координата значительно превышает первую по модулю). Исключения составляют только точки (x, y) , в которых \dot{y} близко к нулю, т.е. лежащие на или вблизи линии, определяемой равенством $\dot{y} = 0$ в уравнении (3.21) или, что то же самое, в уравнении (3.20):

$$(1 - y) \cdot x - \gamma \cdot y = 0.$$

Перепишем это уравнение в эквивалентном при $x \geq 0$ виде:

$$y = \frac{x}{x + \gamma}. \quad (3.22)$$

Заметим, что линия (3.22) является изоклиной горизонтальных касательных для системы (3.20). Изоклина вертикальных касательных системы (3.20) (т.е. линия, вдоль которой $\dot{x} = 0$) имеет похожий вид:

$$-(1 - y) \cdot x + \alpha \cdot y = 0$$

или в эквивалентной форме:

$$y = \frac{x}{x + \alpha}.$$

Изоклина вертикальных касательных лежит выше изоклины горизонтальных касательных ($\alpha < \gamma$), за исключением точки $(0, 0)$ – единственной точки покоя системы (3.20), где изоклины пересекаются в первом квадран-

те (рис. 3.2).

Следовательно, можно ожидать, что траектории $(x(\tau), y(\tau))$ в интересующей нас части фазовой плоскости имеют почти вертикальные участки, по которым происходит движение изображающей точки вплоть до приближения к изоклине $\dot{y} = 0$ (3.22). Затем движение изображающей точки продолжается по направлению к точке покоя вблизи этой изоклины, поскольку большие по абсолютной величине значения \dot{y} вне этой изоклины не дают фазовой точке $(x(\tau), y(\tau))$ от нее удалиться.

Фазовый портрет системы (3.20) изображен на рисунке 3.2.

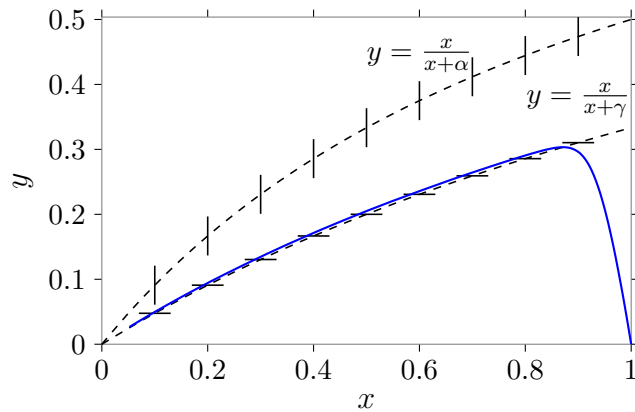


Рис. 3.2. Фазовый портрет модели фермент-субстратной реакции (системы (3.20))

Сопоставление рисунков 3.1 и 3.2 показывает, что движение изображающей точки по почти вертикальным участкам фазовой траектории, например, соответствующим фазе нарастания величины $y(\tau)$ на фазовых траекториях системы (3.20), выходящих из точек с координатами $(x_0, 0)$, происходит в течение сравнительно коротких начальных интервалов времени по отношению ко времени последующего движения вдоль изоклины $\dot{y} = 0$ (3.22) в направлении точки покоя $(0, 0)$.

Все сказанное выше может быть строго обосновано благодаря качественному анализу системы (3.20), исследованию характера ее точки покоя и определению характеристических времен изменения ее переменных.

Действительно, нетрудно убедиться, что система (3.20) имеет в первом квадранте единственную точку покоя $(0, 0)$. Анализ устойчивости этой точки покоя с использованием теоремы Ляпунова показывает, что она явля-

ется устойчивым узлом.

При этом действительные отрицательные собственные числа $\lambda_1 < 0$ и $\lambda_2 < 0$ системы первого приближения в окрестности точки покоя имеют абсолютные величины существенно различных порядков, а именно, $|\lambda_1| \sim 1$ для переменной $x(\tau)$, и $|\lambda_2| \sim 1/\varepsilon$ для переменной $y(\tau)$. В предположении малости ε это означает, что переменная x – медленная, а y – быстрая, с характеристическими временами порядка 1 и ε соответственно.

Решение системы первого приближения (линейной системы ОДУ) представляет собой линейную комбинацию экспоненциальных функций $\exp(\lambda_1\tau)$ и $\exp(\lambda_2\tau)$. Слагаемое, содержащее $\exp(\lambda_2\tau)$, достаточно быстро затухает и, значит, быстрая переменная вносит вклад в решение системы на относительно коротких интервалах времени (порядка ε). Поведение решения системы первого приближения на более продолжительных интервалах времени определяется, в основном, слагаемым, содержащим множитель $\exp(\lambda_1\tau)$, т.е. определяется поведением медленной переменной.

Естественно было бы ожидать подобного поведения и для исходной нелинейной системы (3.20), по крайней мере в окрестности точки покоя. И действительно, как мы видели на рисунках 3.1 и 3.2, на коротком промежутке времени после начала реакции поведение решения системы (3.20) в основном диктуется изменением быстрой переменной y (вертикальные участки фазовых траекторий), а затем фазовая траектория проходит вблизи линии $\dot{y} = 0$, и движение по ней определяется изменением медленной переменной x . Другими словами, начиная с некоторого времени (немного позже начала реакции), быстрая стадия образования фермент-субстратного комплекса в реакции (3.1) почти мгновенно отслеживает текущее значение концентрации субстрата x , приводя концентрацию фермент-субстратного комплекса y в стационарное значение, удовлетворяющее равенству $\dot{y} = 0$, т.е. соотношению (3.22) для данного x .

Система (3.20), в которой в одном из уравнений присутствует малый множитель при производной, является примером системы с сингулярным возмущением [30, 72].

Проведенный выше качественный анализ системы (3.20) обуславливает наше желание редуцировать исходную систему с учетом различия характеристических времен переменных и использовать «квази-стационарность» переменной y (т.е. соотношение (3.22)) при всех текущих значениях x .

Формально нам это позволяет сделать *теорема Тихонова*, которая устанавливает условия редукции системы дифференциальных уравнений с малым параметром [30, 34] (условия замены дифференциальных уравнений для быстрых переменных алгебраическими).

Приведем здесь формулировку теоремы Тихонова.

Пусть полная система имеет вид:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= F(x, y), \\ \varepsilon \frac{dy}{dt} &= G(x, y).\end{aligned}$$

Второе уравнение этой системы называется присоединенным.

Вырожденная (псевдостационарная или редуцированная) система получается, если формально положить $\varepsilon = 0$ в уравнении для быстрой переменной:

$$\frac{dx}{dt} = F(x, y), \quad G(x, y) = 0.$$

Решение полной системы стремится к решению вырожденной системы при $\varepsilon \rightarrow 0$, если:

1. решение полной и присоединенной системы единственны, а правые части непрерывны;
2. решение $y = y(x)$ представляет собой изолированный корень уравнения $G(x, y) = 0$ (в окрестности этого корня нет других корней);
3. решение $y = y(x)$ является устойчивой изолированной особой точкой присоединенного уравнения при всех значениях x ;
4. начальные условия y_0 попадают в область влияния устойчивой особой точки $y = y(x_0)$.

Число начальных условий вырожденной системы меньше, чем полной: начальные значения быстрых переменных не используются в вырожденной системе. Согласно теореме Тихонова, если выполняется условие 3, результат не зависит от начальных условий для переменных присоединенной системы.

Таким образом, необходимым условием редукции полной системы является наличие малого параметра ϵ при производной в одном из уравнений системы.

В нашем примере реакции Михаэлиса-Ментен условия теоремы Тихонова для системы (3.20) выполняются при малых $\epsilon = e_0/s_0 \ll 1$.

Во многих реальных реакциях это условие также выполняется, и значения ϵ лежат в диапазоне $10^{-7} < \epsilon < 10^{-2}$.

В соответствии с этой теоремой, мы можем формально положить $\epsilon = 0$ и заменить присоединенное уравнение для y в полной системе (3.20) алгебраическим уравнением (3.22), определяющим «квази-стационарные» концентрации фермент-субстратного комплекса.

Таким образом, вырожденная (редуцированная) система имеет вид:

$$\frac{dx}{d\tau} = -(1-x)y + \alpha y, \quad (3.23)$$

$$y = \frac{x}{x + \gamma}.$$

Подставив выражение для y в дифференциальное уравнение для x и учтя, что $\gamma = \alpha + \beta$, получим:

$$\frac{dx}{d\tau} = -\beta \frac{x}{x + \gamma}, \quad (3.24)$$

$$x(0) = 1.$$

Решение редуцированной системы (3.23) представлено на рисунке 3.1 в сравнении с решением полной системы (3.20). Видно, что наибольшие отличия решений наблюдаются в течение начального промежутка времени, поскольку в полной и вырожденной системах не совпадают начальные

условия для y : в полной системе $y(0) = 0$, а в вырожденной системе в силу соотношения (3.22) при $x(0) = 1$ имеем:

$$y(0) = \frac{1}{1 + \gamma} > 0.$$

Несовпадение начальных условий является «платой» за понижение порядка системы ОДУ в редуцированной системе при замене одного из ОДУ полной системы алгебраическим уравнением (полагая $\varepsilon = 0$ в системе (3.20)).

Тем не менее, мы видим, что на продолжительном промежутке времени немного позднее начала реакции квази-стационарное приближение (решение вырожденной системы (3.23)) неплохо заменяет решение полной системы (рис. 3.1).

Кроме снижения порядка системы, квази-стационарное приближение (3.23) выгодно также и с вычислительной точки зрения. Поскольку при его выводе уже учтены характеристические времена и особенности поведения быстрых и медленных переменных в системе (3.20), это позволяет обойти проблемы ее вычислительной жесткости, требующие применения неявных методов для эффективного численного решения таких систем.

Рассмотрим исходную систему в так называемом пограничном слое, т.е. при $\tau \sim \varepsilon$. Выберем другой, более приемлемый масштаб времени вблизи $\tau = 0$. Для этого введем новую переменную $\sigma = \tau/\varepsilon$, тогда $\sigma \sim 1$.

Это преобразование означает, что масштаб времени в окрестности $\tau = 0$ увеличен в $1/\varepsilon \gg 1$ раз, и тогда с σ в качестве независимой переменной мы сможем исследовать более подробно область вблизи $\tau = 0$: эта окрестность увеличивается, как под микроскопом.

После этого преобразования уравнения (3.20) превращаются в уравнения:

$$\begin{aligned} \frac{dx}{d\sigma} &= \varepsilon \cdot (-(1 - y) \cdot x + \alpha \cdot y); \\ \frac{dy}{d\sigma} &= (1 - y) \cdot x - \gamma \cdot y; \end{aligned} \tag{3.25}$$

$$x(0) = 1; \quad y(0) = 0.$$

Теперь на рассматриваемых нами временах первый процесс протекает очень медленно, а значит можно считать, что на таких временах его скорость равна нулю.

Если мы теперь положим $\varepsilon = 0$, то не понизим порядок системы, так как обе производные сохранятся, и сможем удовлетворить обоим начальным условиям.

$$\begin{aligned} \frac{dx}{d\sigma} &= 0 \Rightarrow x \equiv 1; \\ \frac{dy}{d\sigma} &= 1 - (1 + \gamma)y. \end{aligned} \quad (3.26)$$

Решим это уравнение. Получим

$$y = \frac{1}{1 + \gamma} \cdot (1 - e^{-(1+\gamma)\cdot\sigma}). \quad (3.27)$$

В результате мы получили два решения:

при $\tau \sim 0$

$$y = \frac{1}{1 + \gamma} \cdot (1 - e^{-(1+\gamma)\cdot\sigma}) \xrightarrow{\sigma \rightarrow \infty (\varepsilon \rightarrow 0)} \frac{1}{1 + \gamma}; \quad (3.28)$$

при $\tau > 0$

$$y = \frac{x}{x + \gamma} \xrightarrow{\tau \rightarrow 0 (\varepsilon \rightarrow 0)} y(0) = \frac{1}{1 + \gamma}. \quad (3.29)$$

В результате получаем, что два псевдорешения «сшиваются», и их можно использовать вместо решения общей системы уравнений.

Решение в форме (3.28), для которого соответствующий масштаб времени есть $\sigma = \tau/\varepsilon$ и которое удовлетворяет начальным условиям при $\sigma = \tau = 0$, называется внутренним решением, или сингулярной частью решения, тогда как решение в форме (3.29), соответствующее значениям $0 \ll \tau \ll \infty$, называется внешним решением или несингулярной частью решения.

Внутреннее решение применимо для $0 \leq \tau/\varepsilon \ll \infty$, когда экспонента $e^{-(1+\gamma)\tau/\varepsilon}$ в уравнении (3.28) существенно отлична от 1. При $\varepsilon \ll 1$ – это очень короткое время. В плоскости (τ, y) – это узкая по τ область, где

концентрация фермент-субстратного комплекса изменяется очень быстро (см. рис. 3.1, слева от пунктирной линии). Эта узкая область называется сингулярным слоем.

Возвращаясь к биологическому смыслу проведенного выше анализа, обратим внимание, что биологи долго не предполагали существования промежуточного состояния фермент-субстратного комплекса, участвующего в преобразовании субстрата в продукт, поскольку быстрые изменения его концентрации происходят, вообще говоря, прежде, чем начинаются какие-либо экспериментальные измерения. Поэтому биологов, как правило, устраивает псевдостационарное решение, хорошо согласующееся с результатами экспериментальных наблюдений.

Первоочередной интерес для биологов представляет определение скорости реакции, которое в эксперименте обычно измеряется в моменты времени, выходящие за рамки действия внутреннего решения.

Напомним, что скорость реакции

$$v = \frac{dp}{dt} = k_2 \cdot c. \quad (3.30)$$

Вернемся к размерным единицам и выразим c через s .

$$c = e_o \cdot y = e_o \cdot \frac{x}{x + \gamma} = e_o \cdot \frac{s/s_o}{s/s_o + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 \cdot s_o}} = e_o \frac{s}{s + K_m} \quad (3.31)$$

Здесь

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} - \text{константа Михаэлиса.} \quad (3.32)$$

Подставим выражение (3.31) в формулу (3.30):

$$v = k_2 \cdot e_o \cdot \frac{s}{s + K_m} = v_{\max} \cdot \frac{s}{s + K_m},$$

где

$$v_{\max} = k_2 \cdot e_o. \quad (3.33)$$

Заметим, что в псевдостационарной системе

$$\frac{ds}{dt} = \frac{dx}{d\tau} \cdot (k_1 \cdot s_o \cdot e_o) = -\frac{k_2 \cdot (k_1 \cdot s_o \cdot e_o)}{k_1 \cdot s_o} \cdot \frac{s}{s + K_m} = -k_2 \cdot e_o \cdot \frac{s}{s + K_m} = -k_2 \cdot c,$$

т.е. скорость расхода субстрата равна скорости образования продукта:

$$\frac{ds}{dt} = -\frac{dp}{dt} = -v_{\max} \cdot \frac{s}{s + K_m},$$

поскольку предполагается, что промежуточная стадия субстрат-ферментного комплекса в каждый момент времени находится в стационарном состоянии.

Формула скорости реакции:

$$v = v_{\max} \cdot \frac{s}{s + K_m} \quad (3.34)$$

является классической формулой Михаэлиса-Ментен в ферментативной кинетике.

Величина K_m в (3.34) соответствует концентрации субстрата, при которой скорость v равна половине максимальной, т.е. при $s = K_m$ $v = 1/2 \cdot v_{\max}$. В то же время, из формулы (3.31) следует, что при $s = K_m$ $c = 1/2 \cdot e_o$, т.е. величина K_m дает концентрацию субстрата, при которой половина фермента находится в состоянии комплекса с субстратом. Другими словами, K_m отражает чувствительность (сродство) фермента к субстрату. Чем она выше, тем ниже сродство фермента к субстрату (аналогично константе диссоциации комплекса, см. выше).

Графически скорость производства продукта от концентрации субстрата будет выглядеть так:

При малых концентрациях субстрата s , промежуточного комплекса c тоже мало, и скорость образования продукта практически пропорциональна концентрации субстрата s . При достаточно больших концентрациях субстрата s практически все частицы фермента будут входить в состав промежуточного комплекса c . Дальнейшее увеличение s к росту c приводить не будет. Поэтому скорость реакции приближается к насыщению, определяе-

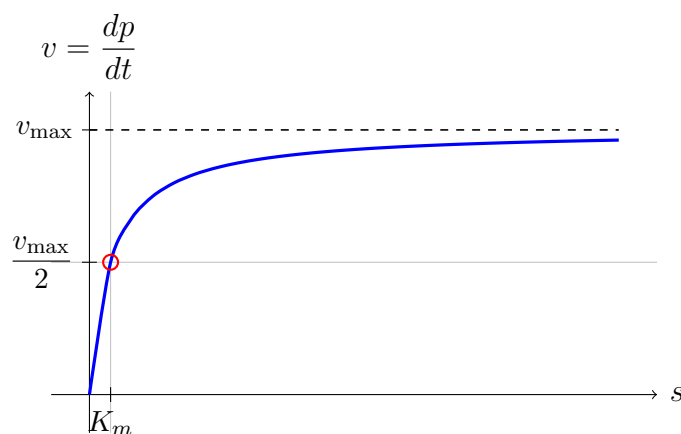


Рис. 3.3. Графически скорость производства продукта v от концентрации субстрата s

мому величиной v_{\max} , которая, в свою очередь, линейно зависит от e_0 и от константы скорости k_2 преобразования комплекса в продукт с высвобождением свободного фермента. Поэтому константу скорости k_2 еще называется скоростью оборота фермента.

Эффект насыщения не является специфической чертой протекания ферментативных реакций. Подобный же эффект характерен и для ряда различных явлений в биологии, да и просто для повседневной жизни. Например, на остановке транспорта скапливаются пассажиры. До тех пор, пока пассажиры свободно помещаются в подходящий автобус, скорость отправки людей будет пропорциональна числу пассажиров на остановке. С увеличением количества пассажиров, автобус сможет забирать максимально допустимое количество пассажиров, и скорость перевозки будет лимитироваться максимальной емкостью автобуса и скоростью его оборота, в точности как в фермент-субстратной реакции.

Итак, скорость фермент-субстратной реакции Михаэлиса-Ментен определяется двумя параметрами: v_{\max} и K_m . Их определяют по экспериментальным данным, например, при поддержании постоянной концентрации субстрата. Это удобно сделать, преобразовав формулу (3.34) следующим образом. Выпишем выражение для величин, обратных v и s :

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{\max}} \cdot \frac{s + K_m}{s} = \frac{1}{v_{\max}} \cdot \left(1 + K_m \cdot \frac{1}{s}\right). \quad (3.35)$$

Видно, что величина $1/v$ линейно зависит от $1/s$ (рис. 3.4). Такая зависимость называется зависимостью Лайнуивера-Берка (Lineweaver-Burk). Величины, обратные v_{\max} и K_m , являются параметрами этой линейной функции, которые определяются по экспериментальным данным.

Для этого экспериментатор:

1. Задаёт концентрацию s и определяет соответствующее значение v .
2. Инвертирует эти значения и получает точку на координатной плоскости $(1/s, 1/v)$.
3. Прodelывается это несколько раз при разных величинах s .
4. По полученным точкам, например методом наименьших квадратов, строит прямую.
5. Для этой прямой определяет оценки значений K_m и v_{\max} .

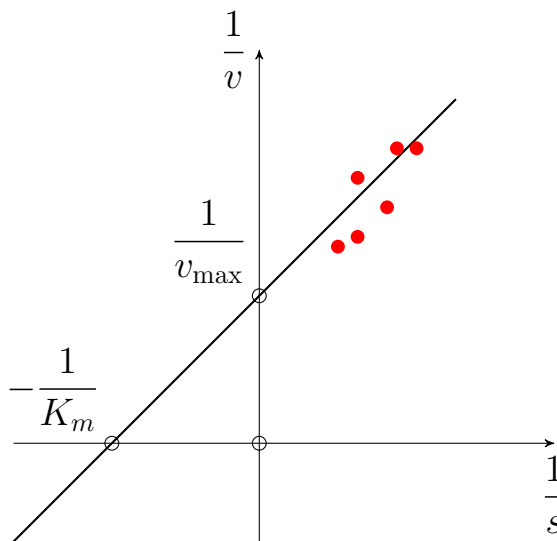


Рис. 3.4. График Лайнуивера-Берка

Формально формулу (3.35) можно было получить, опираясь на соотношение (аналогичное соотношениям (3.7) и (3.10)), вытекающее из предположения стационарности промежуточной реакции образования фермент-субстратного комплекса. В соответствии с этим приравняем к нулю правую

часть уравнения для для концентрации комплекса в системе (3.15):

$$\frac{dc}{dt} = k_1 \cdot e \cdot s - (k_{-1} + k_2) \cdot c.$$

Получим:

$$k_1 \cdot e \cdot s - (k_{-1} + k_2) \cdot c = 0,$$

откуда следует соотношение для стационарных концентраций:

$$\frac{e \cdot s}{c} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m. \quad (3.36)$$

Учтя определения (3.30) и (3.33), а также равенство $e_0 = c + e$, выпишем соотношение для величины v_{max}/v :

$$\frac{v_{max}}{v} = \frac{k_2 \cdot e_0}{k_2 \cdot c} = \frac{c + e}{c} = 1 + \frac{e}{c}.$$

Преобразуем последнее слагаемое и воспользуемся соотношением (3.36):

$$\frac{v_{max}}{v} = 1 + \frac{e}{c} = 1 + \frac{e \cdot s}{c \cdot s} = 1 + \frac{e \cdot s}{c} \cdot \frac{1}{s} = 1 + K_m \cdot \frac{1}{s}.$$

Осталось поделить обе части равенства на v_{max} , чтобы получить формулу (3.35). Имея это соотношение, легко перейти к исходным координатам (s, v) и получить формулу (3.34) для скорости реакции v .

Далее мы будем пользоваться этим приемом для выведения формул скорости реакции в более сложных случаях. При этом мы будем предполагать, что проведен анализ характеристических времен в системе и обоснована возможность перехода к псевдостационарной системе, для которой справедливы стационарные соотношения типа (3.36).

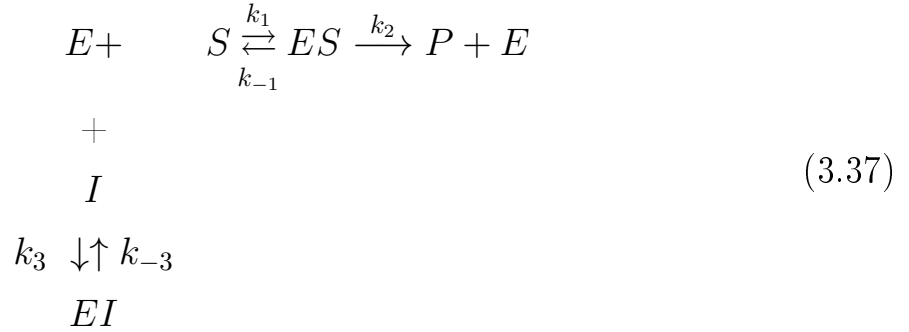
3.2. Нелинейные эффекты в ферментативной кинетике

3.2.1. Конкурентное ингибирование

Рассмотрим несколько более сложную ситуацию, чем в реакции Михаэлиса-Ментен. Пусть, как и раньше, фермент имеет один связывающий центр, за который конкурируют два вещества со сходной структурой,

субстрат S и ингибитор I . Когда ингибитор связывается с ферментом, образование продукта не происходит, что приводит к уменьшению скорости реакции, или, другими словами, ингибированию (*inhibition*, т.е. подавление) функции фермента [24].

Схема реакции может быть представлена в виде:



Используем аналогичные обозначения, как и в предыдущем параграфе, с учетом существования двух видов комплекса фермента с субстратом ES и с ингибитором EI :

$$s = [S], \quad i = [I], \quad e = [E], \quad c_1 = [ES], \quad c_2 = [EI], \quad p = [P].$$

Применение закона действующих масс дает следующие кинетические уравнения:

$$\begin{aligned}
 \frac{ds}{dt} &= k_{-1} \cdot c_1 - k_1 \cdot e \cdot s \\
 \frac{di}{dt} &= k_{-3} \cdot c_2 - k_3 \cdot e \cdot i \\
 \frac{de}{dt} &= (k_{-1} + k_2) \cdot c_1 + k_{-3} \cdot c_2 - k_3 \cdot e \cdot i - k_1 \cdot e \cdot s \\
 \frac{dc_1}{dt} &= k_1 \cdot s \cdot e - (k_{-1} + k_2) \cdot c_1 \\
 \frac{dc_2}{dt} &= k_3 \cdot e \cdot i - k_{-3} \cdot c_2 \\
 \frac{dp}{dt} &= k_2 c_1.
 \end{aligned} \quad (3.38)$$

$$s(0) = s_0, \quad i(0) = i_0, \quad e(0) = e_0, \quad c_1(0) = c_2(0) = 0.$$

Здесь, как и в уравнениях для реакции Михаэлиса-Ментен, concentra-

ция продукта также может быть легко найдена, если известна концентрация комплекса c_1 .

Уравнение сохранения для фермента получаем, складывая уравнения для c_1 , c_2 и e и учитывая начальные условия:

$$c_1 + c_2 + e = e_0. \quad (3.39)$$

Можно провести обезразмеривание системы (3.38) и при условии малости величин

$$\varepsilon_1 = \frac{e_0}{s_0}, \quad \varepsilon_1 = \frac{i_0}{s_0}$$

получить уравнения с малыми параметрами при производной в уравнениях для концентраций фермент-субстратных комплексов, как это было сделано ранее для исходной реакции Михаэлиса-Ментен.

По теореме Тихонова эти уравнения можно заменить алгебраическими. Сделаем это сразу для исходных уравнений для c_1 и c_2 в системе (3.38) и выпишем стационарные соотношения, как это было сделано в предыдущем параграфе:

$$\begin{aligned} \frac{e \cdot s}{c_1} &= \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m - \text{константа Михаэлиса} \\ \frac{e \cdot i}{c_2} &= \frac{k_{-3}}{k_3} = K_i - \text{константа ингибирования.} \end{aligned} \quad (3.40)$$

Используем эти выражения в формуле для v_{max}/v :

$$\frac{v_{max}}{v} = \frac{k_2 e_0}{k_2 c_1} = \frac{e + c_1 + c_2}{c_1} = \frac{e}{c_1} + 1 + \frac{c_2}{c_1}.$$

Домножим первое и последнее слагаемое так, чтобы использовать формулы (3.40).

$$\begin{aligned} \frac{v_{max}}{v} &= \frac{e \cdot s}{c_1} \cdot \frac{1}{s} + 1 + \frac{c_2}{e \cdot i} \cdot i \cdot \frac{e \cdot s}{c_1} \cdot \frac{1}{s} = K_m \cdot \frac{1}{s} + 1 + \frac{i}{K_i} \cdot K_m \cdot \frac{1}{s} = \\ &= 1 + \left(1 + \frac{i}{K_i}\right) \cdot K_m \cdot \frac{1}{s}. \end{aligned}$$

Окончательно получим следующее выражение:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{max}} \cdot \left(1 + \left(1 + \frac{i}{K_i}\right) \cdot K_m \cdot \frac{1}{s}\right). \quad (3.41)$$

Если сравнить его с аналогичным выражением (3.35) для скорости реакции без ингибирования, то видно, что множитель при K_m больше 1, как если бы увеличилась эффективная константа Михаэлиса в данной реакции:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{max}} \cdot \left(1 + \overline{K_m} \cdot \frac{1}{s}\right),$$

где

$$\overline{K_m} = \left(1 + \frac{i}{K_i}\right) \cdot K_m.$$

Мы в прошлом параграфе отмечали, что чем больше константа Михаэлиса, тем меньше скорость реакции (т.к. больше субстрата необходимо, чтобы достичь полумаксимума скорости реакции).

Действительно, из графика Лайнуивера-Бэрка для зависимости (3.35) видно, что при одних и тех же значениях $1/s$ значения $1/v$ лежат выше в случае, когда есть ингибирование (рис. 3.5), следовательно исходные значения скорости реакции v , напротив, – меньше.

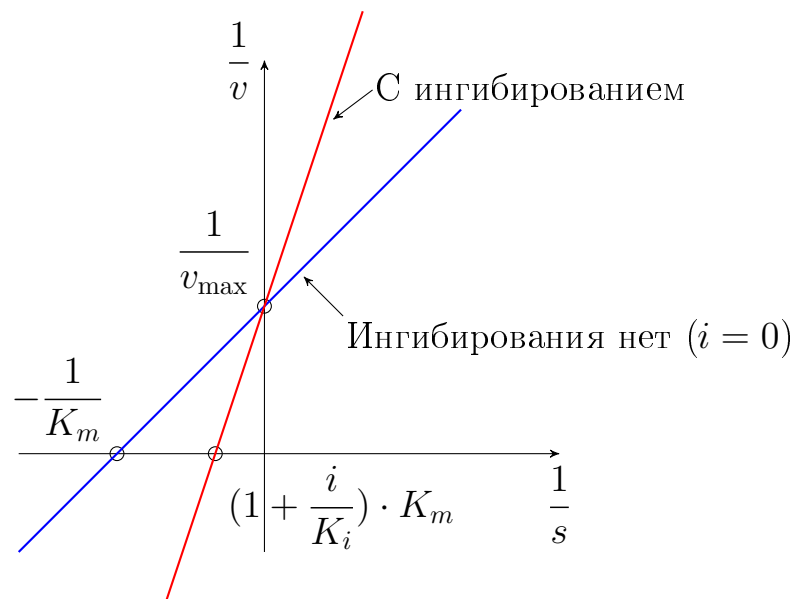


Рис. 3.5. График Лайнуивера-Бэрка для реакции с конкурентным ингибированием

Вернувшись к прямым зависимостям, получим:

$$v = v_{\max} \cdot \frac{s}{s + \overline{K}_m} = v_{\max} \cdot \frac{s}{s + K_m \cdot (1 + \frac{i}{K_i})}. \quad (3.42)$$

Таким образом, при конкурентном ингибировании увеличивается эффективная (кажущаяся) константа Михаэлиса, а максимальная скорость ферментативной реакции остается неизменной. Эффективная чувствительность фермента к субстрату снижается и скорость реакции уменьшается. При одинаковых значениях концентрации s скорость v будет ниже в случае ингибирования (рис. 3.6).

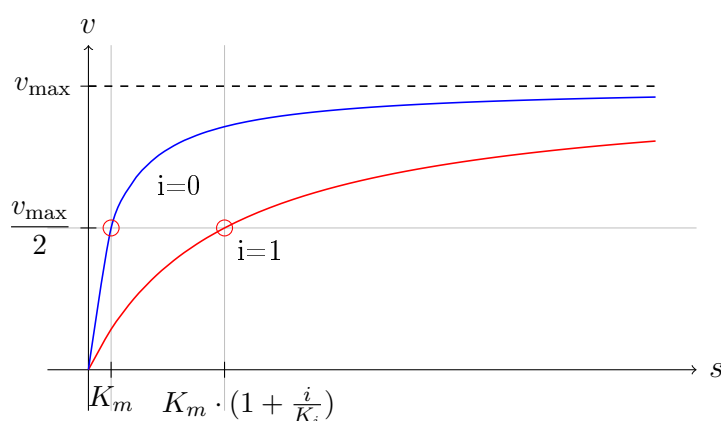
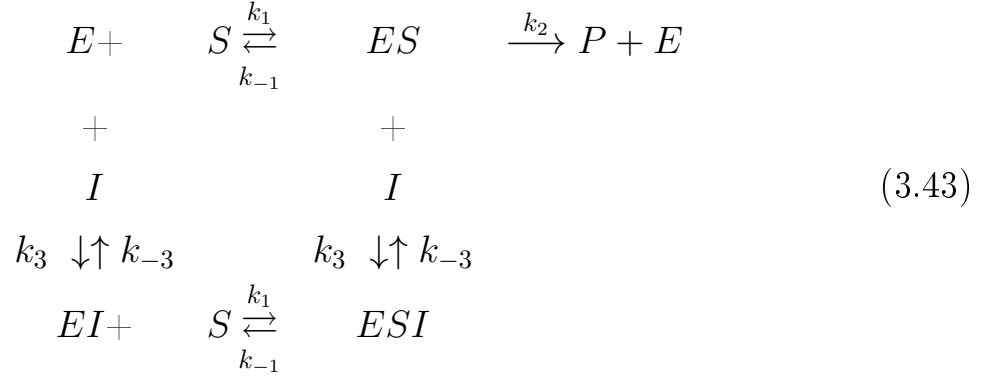


Рис. 3.6. График скорости для реакции с конкурентным ингибированием

3.2.2. Неконкурентное ингибирование

В наиболее простом случае неконкурентного ингибирования субстрат S и ингибитор I связываются каждый со своим активным центром на молекуле фермента E , но производство продукта возможно только в отсутствии ингибитора в комплексе, т.е. ингибитор вызывает такие конформационные изменения, которые не позволяют ферменту превращать субстрат в продукт. Предположим для простоты, что присоединение ингибитора не влияет на сродство фермента к субстрату, и ингибитор способен присоединяться как к свободному ферменту, так и к фермент-субстратному комплексу с одинаковыми кинетическими константами.

Схема реакции в таком случае будет следующей:



Обозначим концентрацию комплексов фермента с субстратом и ингибитором $c_3 = [ESI]$. Остальные обозначения сохраним, как в предыдущем разделе.

Естественно, что здесь справедливо следующее уравнение сохранения:

$$e + c_1 + c_2 + c_3 = e_0.$$

Система уравнений для рассматриваемой реакции имеет вид:

$$\begin{aligned}
\frac{de}{dt} &= -k_1 \cdot e \cdot s + k_{-1} \cdot c_1 + k_2 \cdot c_1 - k_3 \cdot e \cdot i + k_{-3} \cdot c_2 \\
\frac{ds}{dt} &= -k_1 \cdot e \cdot s + k_{-1} \cdot c_1 - k_1 \cdot c_2 \cdot s + k_{-1} \cdot c_3 \\
\frac{di}{dt} &= -k_3 \cdot e \cdot i + k_{-3} \cdot c_2 - k_3 \cdot c_1 \cdot i + k_{-3} \cdot c_3 \\
\frac{dc_1}{dt} &= k_1 \cdot s \cdot e - (k_{-1} + k_2) \cdot c_1 - k_3 \cdot c_1 \cdot i + k_{-3} \cdot c_3 \\
\frac{dc_2}{dt} &= -k_{-3} \cdot c_2 + k_3 \cdot i \cdot e - k_1 \cdot s \cdot c_2 + k_{-1} \cdot c_3 \\
\frac{dc_3}{dt} &= k_1 \cdot c_2 \cdot s - k_1 \cdot c_3 - k_{-3} \cdot c_3 + k_3 \cdot c_1 \cdot i \\
\frac{dp}{dt} &= k_2 c_1
\end{aligned} \tag{3.44}$$

В результате обезразмеривания системы, как и раньше, возникают малые параметры при производных для безразмерных переменных, соответствующих переменным c_1 , c_2 и c_3 . Значит, опять можно воспользоваться псевдостационарными уравнениями.

Сделаем более сильное допущение и будем считать, что все промежуточ-

ные стадии образования комплексов в схеме (3.43) находятся в псевдостационарном состоянии. Это некоторое огрубление ситуации, позволяющее получить более простые формулы, чем при приравнивании нулю правых частей в уравнениях для c_1 , c_2 и c_3 системы (3.44) и решении полученной системы алгебраических уравнений относительно этих переменных. С учетом этого допущения можно получить следующие псевдостационарные соотношения, аналогичные соотношениям (3.40):

$$\begin{aligned}\frac{e \cdot s}{c_1} &= \frac{c_2 \cdot s}{c_3} = K_m \\ \frac{e \cdot i}{c_2} &= \frac{c_1 \cdot i}{c_3} = K_i\end{aligned}\tag{3.45}$$

Дальше воспользуемся прежней схемой вывода формулы для обратной величины для скорости реакции:

$$\frac{v_{max}}{v} = \frac{k_2 e_0}{k_2 c_1} = \frac{e + c_1 + c_2 + c_3}{c_1} = \frac{e}{c_1} + 1 + \frac{c_2}{c_1} + \frac{c_3}{c_1}.$$

Первые три слагаемых с учетом (3.45) преобразуются аналогично предыдущему случаю (см. выше), а последнее слагаемое следующим способом:

$$\frac{c_3}{c_1} = \frac{c_3}{c_1 \cdot i} \cdot i = \frac{i}{K_i}.$$

В итоге имеем:

$$\begin{aligned}\frac{1}{v} &= \frac{1}{v_{max}} \cdot \left(K_m \cdot \frac{1}{s} + 1 + \frac{i}{K_i} \cdot K_m \cdot \frac{1}{s} + \frac{i}{K_i} \right) \\ &= \frac{1}{v_{max}} \cdot \left(1 + \frac{i}{K_i} \right) \cdot \left(1 + K_m \frac{1}{s} \right).\end{aligned}\tag{3.46}$$

Если сравнить это выражение с аналогичным выражением (3.35) для скорости реакции без ингибирования, видно, что здесь ингибирующий множитель действует не на константу Михаэлиса K_m , как в случае конкурентного ингибирования, а на величину максимальной скорости, как если бы эффективная максимальная скорость данной реакции уменьшилась:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{max}} \cdot \left(1 + K_m \cdot \frac{1}{s} \right),$$

где

$$\overline{v_{max}} = \frac{v_{max}}{1 + \frac{i}{K_i}}.$$

Естественно, что снижение максимальной скорости реакции означает ее замедление или ингибирование фермента. Действительно, из графика Лайнуивера-Бэрка для зависимости (3.46) видно, что при одних и тех же значениях $1/s$ значения $1/v$ лежат выше в случае неконкурентного ингибирования (рис. 3.7), следовательно исходные значения скорости реакции v , напротив, – меньше.

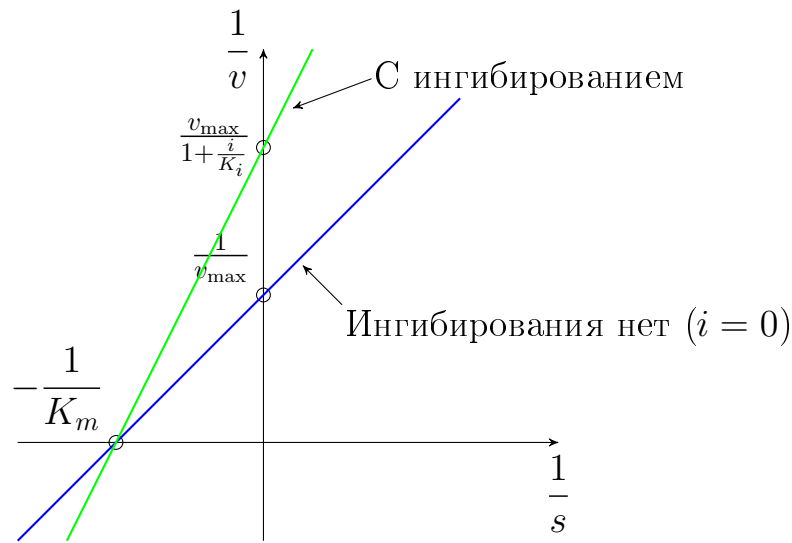


Рис. 3.7. График Лайнуивера-Бэрка для реакции с неконкурентным ингибированием.

Перейдя к исходным координатам, получим следующую формулу для скорости реакции в случае неконкурентного ингибирования:

$$v = \overline{v_{max}} \cdot \frac{s}{s + K_m} = \frac{v_{max}}{1 + \frac{i}{K_i}} \cdot \frac{s}{s + K_m}. \quad (3.47)$$

Таким образом, константа Михаэлиса для реакции образования продукта не изменяется, а максимальная скорость – уменьшается, так что при одинаковых значениях концентрации s скорость v будет меньше в случае ингибирования (рис. 3.8).

Сравним конкурентное и неконкурентное ингибирование с точки зрения снижения скорости образования продукта. Рассмотрим частный случай, когда $i = K_i$.

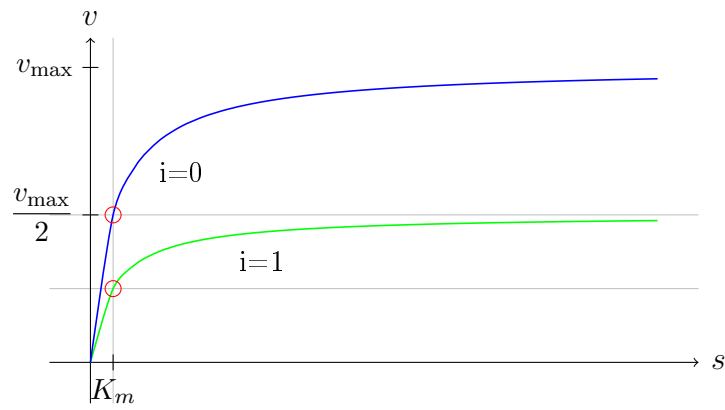


Рис. 3.8. График для скорости реакции с неконкурентным ингибированием

В случае конкурентного ингибирования имеем:

$$\bar{K}_m = 2K_m, \quad v = v_{\max} \cdot \frac{s}{s + 2K_m}.$$

В случае неконкурентного ингибирования получим:

$$\bar{v}_{\max} = \frac{v_{\max}}{2}, \quad v = \frac{V_{\max}}{2} \cdot \frac{s}{s + K_m}.$$

На рисунке 3.9 видно, что график Лайнуивера-Берка лежит выше в случае неконкурентного ингибирования, указывая на более сильное замедление скорости реакции по сравнению с конкурентным.

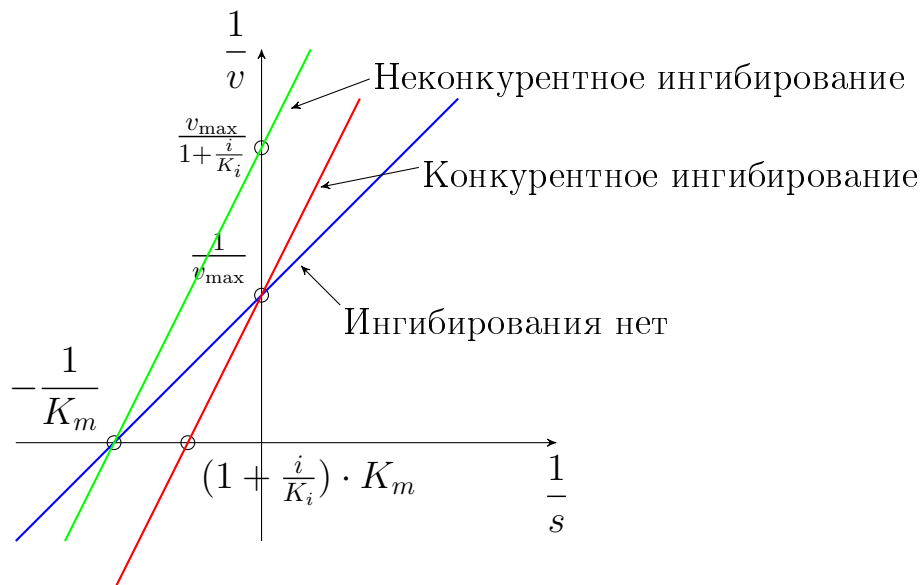


Рис. 3.9. Сравнение скорости реакции с конкурентным и неконкурентным ингибированием

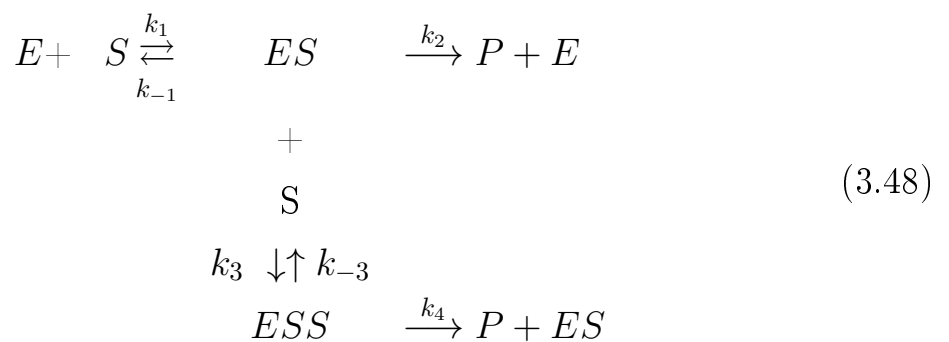
3.2.3. Кооперативные явления в ферментативной кинетике

В предыдущих рассмотренных случаях фермент имел только один центр связывания субстрата. Однако таких центров может быть несколько. Например, гемоглобин – важный белок-переносчик кислорода в красных кровяных клетках, – имеет четыре связывающих центра для субстрата – кислорода.

Будем рассматривать случай, когда присоединение одной молекулы субстрата ускоряет (положительная кооперативность) или замедляет (отрицательная кооперативность) присоединение молекулы субстрата в другом центре.

Например, возможна такая ситуация, когда присоединение к одному центру настолько сильно увеличивает вероятность присоединения к другому центру, что это выглядит как присоединение либо сразу 2-х молекул, либо ни одной. Например, по такому принципу работают кальциевые насосы в клетках сердечной мышцы, переносящие ионы кальция через внешнюю мембрану клетки или через мембраны внутриклеточных органелл. Чтобы осуществить конформацию белка, обеспечивающую перенос, к молекуле насоса-переносчика должно присоединиться два иона кальция.

Рассмотрим такую схему реакции:



Здесь ESS – комплекс фермента с двумя молекулами субстрата. Обозначим $c_1 = [ES]$, $c_2 = [ESS]$.

В рассматриваемом случае и комплекс c_1 , и комплекс c_2 претерпевают преобразования с образованием продукта.

Полная система уравнений имеет вид:

$$\begin{aligned}
\frac{ds}{dt} &= -k_1 \cdot e \cdot s + k_{-1} \cdot c_1 - k_3 \cdot s \cdot c_1 + k_{-3} \cdot c_2 \\
\frac{de}{dt} &= -k_1 \cdot e \cdot s + (k_{-1} + k_2) \cdot c_1 \\
\frac{dc_1}{dt} &= k_1 \cdot s \cdot e - (k_{-1} + k_2) \cdot c_1 - k_3 \cdot c_1 \cdot s + (k_{-3} + k_4) \cdot c_2 \\
\frac{dc_2}{dt} &= k_3 \cdot c_1 \cdot s - (k_{-3} + k_4) \cdot c_2 \\
v = \frac{dp}{dt} &= k_2 \cdot c_1 + k_4 \cdot c_2.
\end{aligned} \tag{3.49}$$

Предположим, что как и прежде допустима замена уравнений для комплексов c_1 и c_2 на псевдостационарные уравнения:

$$k_1 \cdot s \cdot e - (k_{-1} + k_2) \cdot c_1 - k_3 \cdot c_1 \cdot s + (k_{-3} + k_4) \cdot c_2 = 0,$$

$$k_3 \cdot c_1 \cdot s - (k_{-3} + k_4) \cdot c_2 = 0.$$

Тогда справедливы следующие стационарные соотношения:

$$\frac{e \cdot s}{c_1} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_{m1},$$

$$\frac{c_1 \cdot s}{c_2} = \frac{k_{-3} + k_4}{k_3} = K_{m2}.$$

Используя эти соотношениями и условие сохранения $e_o = e + c_1 + c_2$, найдем обратные величины отношений в правой части следующего выражения для скорости реакции:

$$v = e_o \cdot \left(k_2 \cdot \frac{c_1}{e_o} + k_4 \cdot \frac{c_2}{e_o} \right). \tag{3.50}$$

$$\begin{aligned}
\frac{e_o}{c_1} &= \frac{e + c_1 + c_2}{c_1} = \frac{e}{c_1} + 1 + \frac{c_2}{c_1} = K_{m1} \cdot \frac{1}{s} + 1 + \frac{1}{K_{m2}} \cdot s = \\
&= \frac{K_{m1} \cdot K_{m2} + K_{m2} \cdot s + s^2}{K_{m2} \cdot s}.
\end{aligned}$$

Далее, заметим, что справедливо следующее преобразование:

$$\frac{e}{c_2} = \frac{e \cdot s}{c_1} \cdot \frac{1}{s} \cdot \frac{c_1 \cdot s}{c_2} \cdot \frac{1}{s} = K_{m1} \cdot K_{m2} \cdot \frac{1}{s^2}.$$

Используя его, получим:

$$\begin{aligned} \frac{e_o}{c_2} &= \frac{e + c_1 + c_2}{c_2} = \frac{e}{c_2} + \frac{c_1}{c_2} + 1 = K_{m1} \cdot K_{m2} \frac{1}{s^2} + K_{m2} \cdot \frac{1}{s} + 1 = \\ &= \frac{K_{m1} \cdot K_{m2} + K_{m2} \cdot s + s^2}{s^2}. \end{aligned}$$

Подставим перевернутые дроби в выражение (3.50) и окончательно получим:

$$v = e_o \cdot \frac{k_2 \cdot K_{m2} \cdot s + k_4 \cdot s^2}{K_{m1} \cdot K_{m2} + K_{m2} \cdot s + s^2}. \quad (3.51)$$

Обратим внимание, что в формуле (3.51) возник квадрат концентрации субстрата, что отражает участие 2-х молекул субстрата в данной реакции. Заметим, что зависимость скорости реакции v от концентрации субстрата s описывается более нелинейной функцией, чем в реакции с одним центром связывания. График этой зависимости имеет характерный S -образный характер и называется кривой Хилла [56] (рис. 3.10).

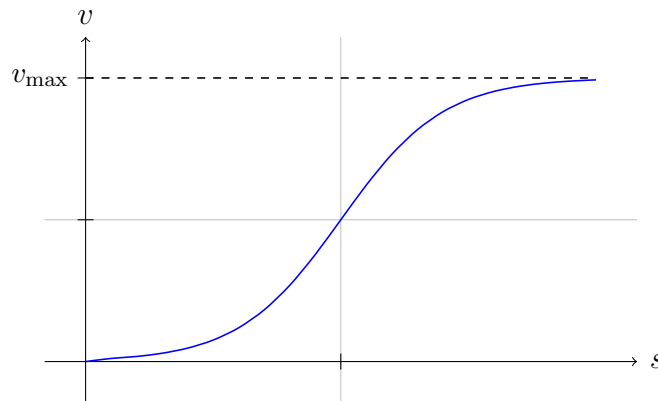


Рис. 3.10. Кривая Хилла для скорости фермент-субстратной реакции с двумя активными центрами связывания субстрата

Если концентрация s мала, то s^2 – величина большего порядка малости, и в формуле (3.51) ей можно пренебречь:

$$v \sim e_o \cdot \frac{k_2 \cdot K_{m2} \cdot s}{K_{m1} \cdot K_{m2} + K_{m2} \cdot s} = e_o \cdot k_2 \cdot \frac{s}{K_{m1} + s}.$$

Таким образом, при $s \sim 0$ формула (3.51) дает значения скорости реакции, близкие к скорости в классической формуле Михаэлиса-Ментен при отсутствии 2-го центра, т.е. кооперативный эффект – незначителен.

Когда s растет, роль слагаемых, содержащих s^2 , возрастает, и максимальная скорость реакции пропорциональная константе скорости k_4 для преобразования комплекса с двумя присоединенными молекулами субстрата:

$$v \sim e_o \cdot k_4.$$

Рассмотрим далее две пограничные ситуации.

1. *Два активных центра связывают субстрат независимо друг от друга.*

Обозначим константу скорости связывания молекулы субстрата с одним из активных центров k_+ , соответствующую константу распада k_- , а константу скорости образования продукта k_p .

Когда фермент свободен, то вероятность связывания с одним из 2-х доступных центров в два раза больше по сравнению с k_+ , т.е. $k_1 = 2 \cdot k_+$ (в соответствии со схемой вероятность одновременного связывания с двумя центрами полагается равной нулю). Рассуждая аналогично, имеем:

$$k_1 = 2 \cdot k_3 = 2 \cdot k_+; \quad k_{-3} = 2 \cdot k_{-1} = 2 \cdot k_-; \quad k_4 = 2 \cdot k_2 = 2k_p.$$

Подставим эти соотношения в выражения для констант Михаэлиса:

$$K_{m1} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = \frac{k_- + k_p}{2 \cdot k_+} = \frac{1}{2} \cdot K,$$

$$K_{m2} = \frac{k_{-3} + k_4}{k_3} = \frac{2 \cdot k_- + 2 \cdot k_p}{k_+} = 2 \cdot K,$$

где

$$K = \frac{k_- + k_p}{k_+}$$

есть константа Михаэлиса для реакции с одним центром связывания субстрата.

Подставим эти выражения в формулу (3.51):

$$\begin{aligned} v &= e_o \cdot \frac{k_p \cdot 2 \cdot K \cdot s + 2 \cdot k_p \cdot s^2}{\frac{1}{2} \cdot K \cdot 2 \cdot K + 2 \cdot K \cdot s + s^2} = 2 \cdot e_o \cdot k_p \cdot \frac{s \cdot (K + s)}{K^2 + 2K \cdot s + s^2} \\ &= 2e_o k_p \frac{s}{K + s} = 2v_{\max} \frac{s}{K + s}, \end{aligned}$$

где v_{\max} - максимальная скорость реакции с одним центром.

Таким образом, скорость удваивается по сравнению со скоростью реакции с одним местом связывания субстрата. То есть, если связывание одной молекулы субстрата не влияет на связывание другой, емкость фермента как бы увеличивается пропорционально количеству мест связывания субстрата.

2. Присоединение одной молекулы субстрата почти мгновенно влечет присоединение второй молекулы.

Положим, что $k_1 \ll k_3$, так что можно использовать следующие соотношения:

$$k_1 = 0; k_3 = \infty; k_1 \cdot k_3 = \text{const},$$

где последнее соотношение указывает на конечную константу скорости образования комплекса с двумя присоединенными молекулами субстрата. Тогда справедливы следующие соотношения:

$$K_{m1} \rightarrow \infty; K_{m2} \rightarrow 0.$$

Введем также следующее обозначение:

$$K_{m1} \cdot K_{m2} = K^2.$$

Тогда справедлива следующая формула:

$$v = e_o \cdot \frac{k_2 \cdot 0 \cdot s + k_4 \cdot s^2}{K^2 + 0 \cdot s + s^2} = e_o k_4 \frac{s^2}{K^2 + s^2} = v_{\max} \frac{s^2}{K^2 + s^2}. \quad (3.52)$$

Эта функция называется функцией Хилла с *параметром Хилла* $n = 2$, равным степени концентрации s .

На рисунке 3.11 кривая Хилла сравнивается с гиперболической функцией $v = v_{\max} \frac{s}{K+s}$, соответствующей реакции с одиночным центром ($n = 1$) при одинаковых значениях v_{\max} . Видно, что при малых s гиперболическая функция близка к линейной, а кривая Хилла – ближе к квадратичной функции и лежит ниже гиперболы. Точка пересечения кривых – $s = K$, и при $s > K$ кривая Хилла лежит выше гиперболы. Асимптота в обоих случаях одна и та же: $v = v_{\max}$. Т.е. при малых концентрациях s кооперативность фермент-субстратного взаимодействия приводит к снижению скорости реакции, а при больших s , напротив, к ускорению реакции.

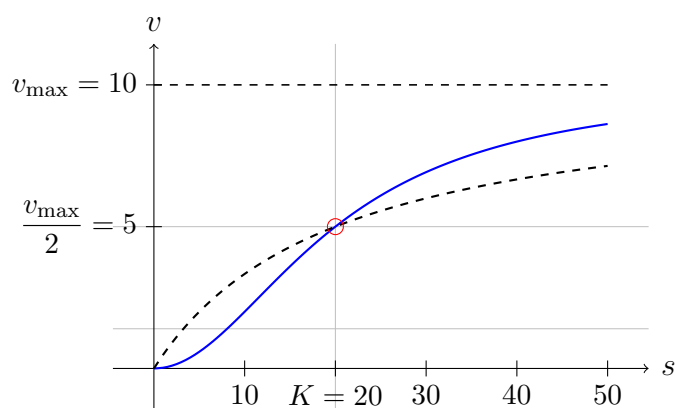


Рис. 3.11. Сравнение кривой Хилла (синяя линия $n = 2$) с гиперболической зависимостью (пунктирная линия $n = 1$).

В общем случае, когда у молекулы фермента имеется n активных центров, формула скорости описывается следующей функцией Хилла:

$$v = v_{\max} \frac{s^n}{K^n + s^n}. \quad (3.53)$$

Понятно, что чем выше параметр Хилла n , тем круче зависимость скорости реакции (3.53) от концентрации субстрата s . При этом зона нечувствительности фермента к субстрату, т.е. диапазон концентраций s , при которых скорость реакции близка к нулю, расширяется с увеличением n . Насыщение фермента и достижение максимальной скорости реакции происходят при меньших концентрациях s .

Если предположить, что фермент-субстратный комплекс может образо-

ываться только если все n молекул субстрата одновременно присоединяются к ферменту, то согласно закону действующих масс (скорость образования комплекса пропорциональна произведению концентраций реагентов) соответствующее кинетическое уравнение для концентрации комплекса c будет иметь вид:

$$\frac{dc}{dt} = k_+ \cdot e \cdot s^n - k_- \cdot c - k_p \cdot c. \quad (3.54)$$

Отсюда, с учетом закона сохранения $e + c = e_0$, нетрудно получить стационарное значение концентрации комплекса:

$$c = e_0 \cdot \frac{s^n}{K^n + s^n}, \quad (3.55)$$

где

$$K^n = \frac{k_- + k_p}{k_+}.$$

Учтя, что скорость образования продукта пропорциональна концентрации комплекса, мы получим соответствующую формулу Хилла (3.53) для скорости данной реакции.

Заметим, что зачастую зависимость скорости реакции от концентрации субстрата аппроксимируют кривой Хилла, даже если степень кооперативности реакции не определяется напрямую количеством мест связывания субстрата на молекуле лиганда. S -образный вид зависимости между скоростью реакции и концентрацией субстрата говорит о наличии нелинейных кооперативных связей между ферментом и субстратом, и параметр Хилла характеризует степень нелинейности этой связи.

Используют следующие способы нахождения параметра n по экспериментальным данным.

1) n характеризует максимальный угол наклона кривой связи $s-v$. При известных значениях v_{max} и K параметр n можно найти из следующей формулы:

$$\begin{aligned}
v'(K) &= v_{max} \cdot \frac{n \cdot s^{n-1} \cdot (K^n + s^n) - s^n \cdot n \cdot s^{n-1}}{(K^n + s^n)^2} \Big|_{S=K} = \\
&= v_{max} \cdot \frac{n \cdot K^n s^{n-1}}{(K^n + s^n)^2} \Big|_{S=K} = v_{max} \cdot \frac{n \cdot K^n K^{n-1}}{(K^n + K^n)^2} = v_{max} \cdot \frac{n}{4 \cdot K}. \quad (3.56)
\end{aligned}$$

2) Используя следующее преобразование координат, можно привести зависимость (3.53) к линейной функции:

$$\frac{v}{v_{max} - v} = \left(\frac{s}{K} \right)^n.$$

Отсюда следует:

$$\ln\left(\frac{v}{v_{max} - v}\right) = n \cdot \ln\left(\frac{s}{K}\right)$$

3.2.4. Ингибирование субстратом

Рассмотрим частный случай реакции (3.48), когда преобразование комплекса в продукт не происходит в случае 2-х присоединенных молекул субстрата, т.е. $k_4 = 0$ [24].

Тогда скорость реакции выражается следующим образом:

$$v = e_o \cdot \frac{k_2 \cdot K_{m2} \cdot s}{K_{m1} \cdot K_{m2} + K_{m2} \cdot s + s^2} = v_{max} \frac{s}{K_m + s + \frac{s^2}{K_i}}, \quad (3.57)$$

где

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_{m1}; \quad K_i = \frac{k_{-3}}{k_3} = K_{m2}.$$

Заметим, что в отличие от всех рассмотренных выше примеров, где наблюдалась максимальная скорость насыщения при достаточных больших концентрациях субстрата s , в этом случае скорость реакции в пределе стремится к нулю. Таким образом, происходит ингибирование реакции при увеличении концентрации субстрата s .

На рисунке 3.12 представлен график скорости v . Видно, что при увеличении концентрации субстрата s достигается некоторое критическое значение, которому соответствует максимальная скорость реакции. Дальнейшее

увеличение концентрации s приводит к уменьшению скорости реакции, поскольку начинает преобладать форма комплекса с двумя связанными центрами, из которой не образуется продукт.

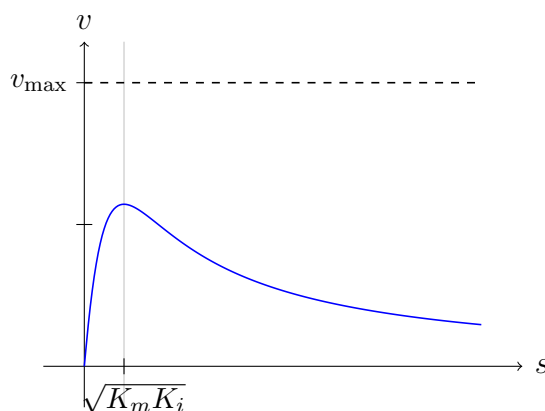


Рис. 3.12. Скорость реакции при ингибировании субстратом

В природе такие механизмы могут играть регуляторную роль. Подобные процессы называются процессами с отрицательной обратной связью. Известны также реакции с ингибированием продуктом. Так, например, если промежуточный или конечный продукт реакции является ее ингибитором, будет наблюдаться самоторможение реакции – скорость будет уменьшаться быстрее, чем уменьшаются концентрации реагентов.

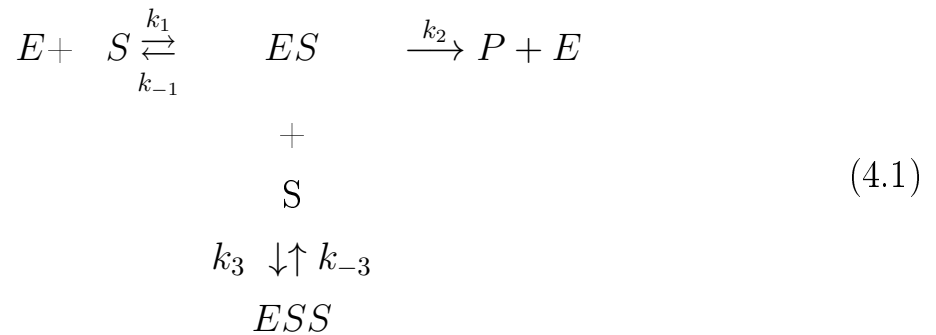
В следующем разделе мы рассмотрим реакцию с ингибированием субстратом в более реалистичных условиях, когда в системе предполагается динамический вход и выход субстрата, и увидим, к чему может приводить нелинейность в такой биохимической системе.

4. ТРИГГЕРНЫЕ СИСТЕМЫ В БИОЛОГИИ

4.1. Биохимический триггер

Важной особенностью биологических систем является их способность переключаться из одного режима функционирования в другой, что соответствует нескольким устойчивым стационарным состояниям системы.

Продолжим рассматривать пример фермент-субстратной реакции с ингибированием субстратом, рассмотренный в предыдущем разделе (схема реакции представлена ниже, см. (4.1)). Напомним, что в этом случае фермент имеет два активных центра связывания субстрата, но преобразование комплекса в продукт не происходит в случае 2-х присоединенных молекул субстрата.



Как было показано в разделе 3, зависимость скорости реакции v от концентрации субстрата s выражается следующей формулой (см. график на рис. 4.1):

$$v = v_{\max} \frac{s}{K_m + s + \frac{s^2}{K_i}}, \quad (4.2)$$

где

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}; \quad K_i = \frac{k_{-3}}{k_3}.$$

В отличие от рассмотренных ранее примеров реакций, сделаем систему открытой, т.е. добавим обмен субстрата с внешней средой (см. схему реакции (4.3)) [23, 24]. Будем предполагать, что субстрат поступает в поле реакции извне с некоторой постоянной скоростью, и часть субстрата выводится из поля реакции со скоростью пропорциональной текущей концентрации

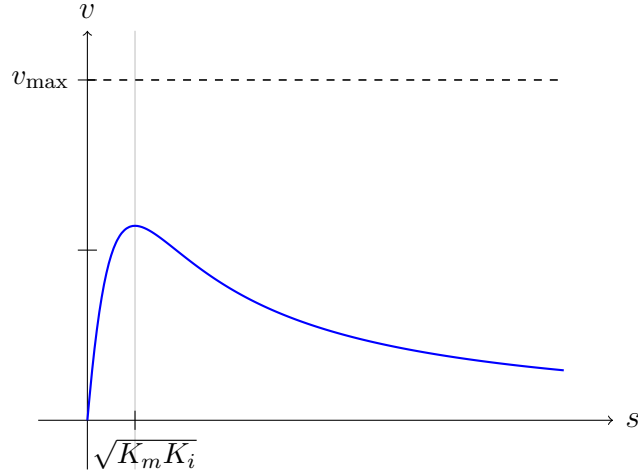
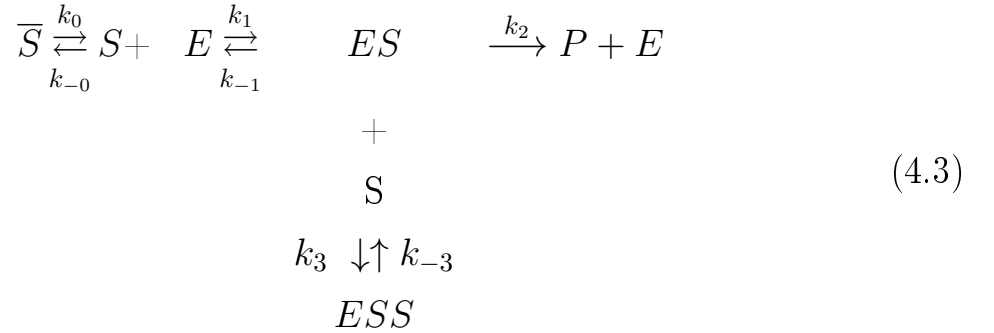


Рис. 4.1. Скорость реакции при ингибировании субстратом

субстрата. При этом, будем предполагать, что концентрация субстрата во внешнем источнике \bar{s} настолько велика, что можно не учитывать её изменений за счет притока-оттока субстрата из поля реакции. Поэтому полагаем $\bar{s} = const$.



Выпишем уравнение для изменения концентрации s в поле реакции с учетом формулы (4.2). При этом в соответствии с псевдостационарными представлениями мы считаем, что скорость расхода субстрата равна скорости образования продукта в соответствующей реакции.

$$\frac{ds}{dt} = k_0 \cdot \bar{s} - k_{-0} \cdot s - v_{\max} \frac{s}{K_m + s + \frac{s^2}{K_i}}.$$

Можно привести это уравнение к безразмерному виду:

$$\frac{ds}{d\tau} = f(s) = -\frac{s}{1 + s + \gamma \cdot s^2} + \beta - \delta \cdot s. \quad (4.4)$$

Найдем стационарные состояния системы. Для этого найдем решения уравнения $f(s) = 0$, записав его в эквивалентном виде:

$$v(s) = w(s), \quad (4.5)$$

где

$$v(s) = \frac{s}{1 + s + \gamma \cdot s^2}; \quad w(s) = \beta - \delta \cdot s$$

Другими словами, в равновесном состоянии обмен субстрата с внешней средой должен уравновесить расход субстрата на образование продукта.

Зафиксируем параметры δ и γ , а параметр β , отвечающий за скорость притока субстрата в поле реакции, будем варьировать и наблюдать за изменением стационарных состояний системы в зависимости от β .

Решения стационарного уравнения легко находятся графически. На рисунке 4.2 видно, как меняется количество точек пересечения графиков функций $v(s)$ и $w(s)$, т.е. сколько решений имеет уравнение (4.5) при различных значениях параметра β .

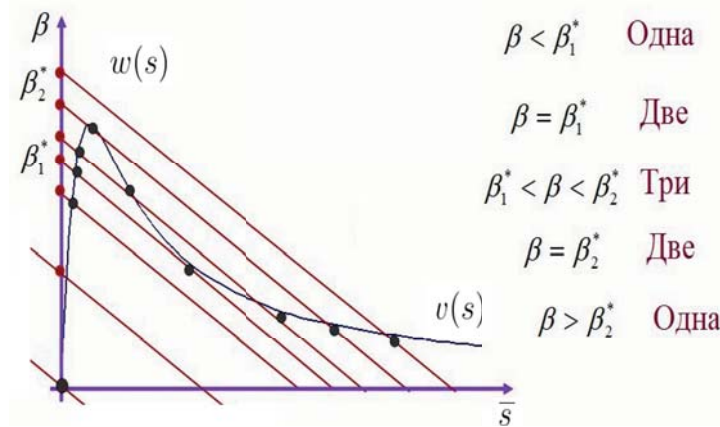


Рис. 4.2. Графическое решение стационарного уравнения (4.5) при различных значениях параметра β . Точки пересечения графиков — дают стационарные значения \bar{s}

При $\beta = 0$, т.е. при отсутствии поступления субстрата в поле реакции извне, единственная точка покоя системы $\bar{s} = 0$. Это вполне естественно, поскольку весь имеющийся в начальный момент субстрат будет при отсутствии поступления переработан в продукт.

При достаточно малых значениях $\beta > 0$ картина качественно не меняет-

ся и у графиков по-прежнему сохраняется единственная точка пересечения на восходящей ветке графика $v(s)$. Это означает, что благодаря внешней подпитке реакция выходит на стационарный режим с постоянным значением концентрации субстрата \bar{s} и соответствующей ему скоростью реакции $v(\bar{s})$, значение которой тоже можно увидеть на графике. Заметим, что при малых $\beta > 0$ и значение стационарной концентрации $\bar{s} > 0$, и скорость реакции $v(\bar{s})$ тоже достаточно малы.

Дальнейшее увеличение параметра $\beta > 0$ приводит к росту стационарной концентрации $\bar{s} > 0$ и к росту $v(\bar{s})$, при этом скорость реакции растет в большей степени в силу нелинейной зависимости $v(s)$.

Из приведенных на рисунке 4.2 графиков видно, что в окрестности точки покоя \bar{s} функция $f(s) = w(s) - v(s)$ в правой части уравнения (4.4) убывает, поскольку слева от точки покоя $w(s) > v(s)$, значит, $f(s) > 0$, а справа от точки покоя $w(s) < v(s)$, значит, $f(s) < 0$. Следовательно, $f'(\bar{s}) < 0$ и точка покоя \bar{s} – устойчивая.

Аналогичная картина сохраняется, пока значение параметра $\beta < \beta_1^*$, а при $\beta = \beta_1^*$ появляется вторая точка пересечения графиков, расположенная на нисходящей ветви графика $v(s)$, т.е. возникает второе состояние равновесия \bar{s}_2 с более высоким уровнем субстрата $\bar{s}_2 > \bar{s}_1$, но, напротив, в силу ингибирования субстратом – более низкой скоростью образования продукта $v(\bar{s}_2) < v(\bar{s}_1)$.

Дальнейшее увеличение параметра $\beta > \beta_1^*$ приводит к «удвоению» \bar{s}_2 и появлению 3-й стационарной точки \bar{s}_3 еще дальше на нисходящей ветви кривой $v(s)$ с еще более высоким уровнем субстрата $\bar{s}_3 > \bar{s}_2 > \bar{s}_1$, но и более низкой скоростью образования продукта $v(\bar{s}_3)$. При этом, с ростом β стационарные точки \bar{s}_2 и \bar{s}_3 начинают удаляться друг от друга, так что \bar{s}_2 постепенно сближается с \bar{s}_1 до тех пор, пока они не сольются в одну точку при $\beta = \beta_2^*$ и останется снова только две стационарные точки.

Наконец, при $\beta > \beta_2^*$ исчезает левая стационарная точка с относительно невысоким значением \bar{s} , но высокой скоростью образования продукта, и останется только правая высокая стационарная точка \bar{s} , при которой ско-

рость образования продукта близка к нулю.

Итак, этот пример замечателен тем, что он демонстрирует возможность нелинейной биохимической системы обладать несколькими возможными стационарными состояниями, в частности, при $\beta_1^* < \beta < \beta_2^*$ имеется три стационарных состояния, что соответствует трем действительным корням кубического уравнения $f(s) = 0$.

Рисунок 4.3 показывает так называемую бифуркационную диаграмму зависимости стационарных состояний от параметра β . Кривая возникновения точки покоя и ее раздвоение – бифуркацию. При этом кривая имеет характерный вид складки, так же называется соответствующий тип бифуркации.

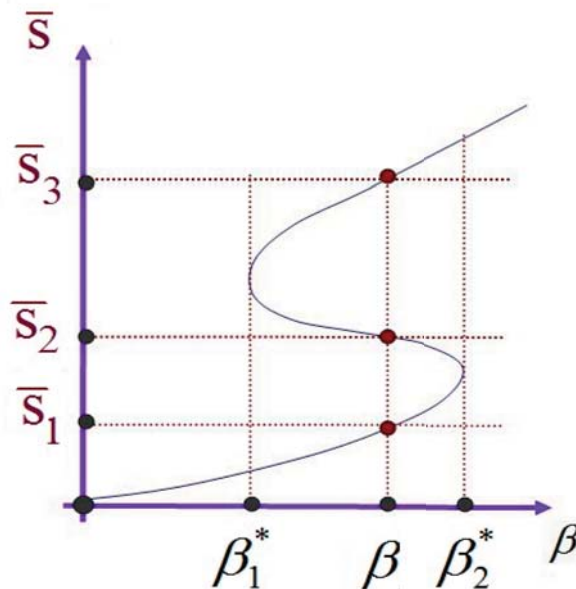


Рис. 4.3. Бифуркационная диаграмма зависимости стационарных состояний от параметра β

Проанализируем тип устойчивости стационарных точек в случае, когда $\beta \in (\beta_1^*, \beta_2^*)$, т.е. имеется три стационарные точки $\{\bar{s}_1, \bar{s}_2, \bar{s}_3\}$.

Проанализируем поведение функции $f(s) = w(s) - v(s)$ в окрестности точек покоя (см. рис. 4.4).

Видно, что $f'(\bar{s}_1) < 0$, $f'(\bar{s}_2) > 0$, $f'(\bar{s}_3) < 0$, так что s_1 и s_3 – *устойчивые* точки покоя, а s_2 – *неустойчивая* точка покоя. Таким образом, нижняя и верхняя ветви бифуркационной кривой соответствуют устойчивым состо-

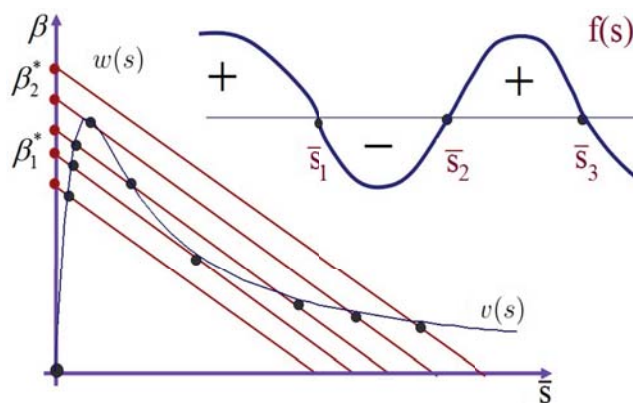


Рис. 4.4. Поведение функции $f(s) = w(s) - v(s)$ в окрестности точек покоя при $\beta \in (\beta_1^*, \beta_2^*)$

нениям равновесия, а между ними – ветвь неустойчивых состояний.

Возникает вопрос, в каком из двух устойчивых стационарных состояний оказывается система? И как, находясь в одном стационарном состоянии, перейти в другое?

На фазовой оси, изображенной на рис. 4.4, видно, что система приходит в то или другое устойчивое состояние в зависимости от того, по какую сторону неустойчивой точки покоя \bar{s}_2 окажется начальное состояние системы $s_0 = s(0)$. Если $s_0 < \bar{s}_2$, то $s(t) \rightarrow \bar{s}_1$, а если $s_0 > \bar{s}_2$, то $s(t) \rightarrow \bar{s}_3$. Другими словами, \bar{s}_2 является водоразделом начальных состояний реакции, определяющим по какому сценарию пойдет дальнейший ход реакции – с достаточной большой скоростью, соответствующей стационарному значению \bar{s}_1 , или с относительно меньшей скоростью, соответствующей \bar{s}_3 .

Пусть система находится в стационарном состоянии \bar{s}_1 . Как ее перевести в состояние \bar{s}_3 ? Есть два способа переключения:

1) *Силовое переключение.*

В этом случае следует скачком изменить состояние системы, чтобы «перепрыгнуть» точку неустойчивости (рис. 5.8 а). После этого через некоторое время, реакция сама перейдет в новое асимптотически устойчивое состояние.

В нашем примере необходимо добавить в поле реакции столько субстрата Δs , чтобы $\bar{s}_1 + \Delta s > \bar{s}_2$.

2) Параметрическое переключение.

В этом случае следует циклически менять параметр β так, чтобы перейдя через бифуркационное значение параметра, перевести стационарную точку с нижней ветви бифуркационной кривой на верхнюю ветвь (рис. 5.8 б).

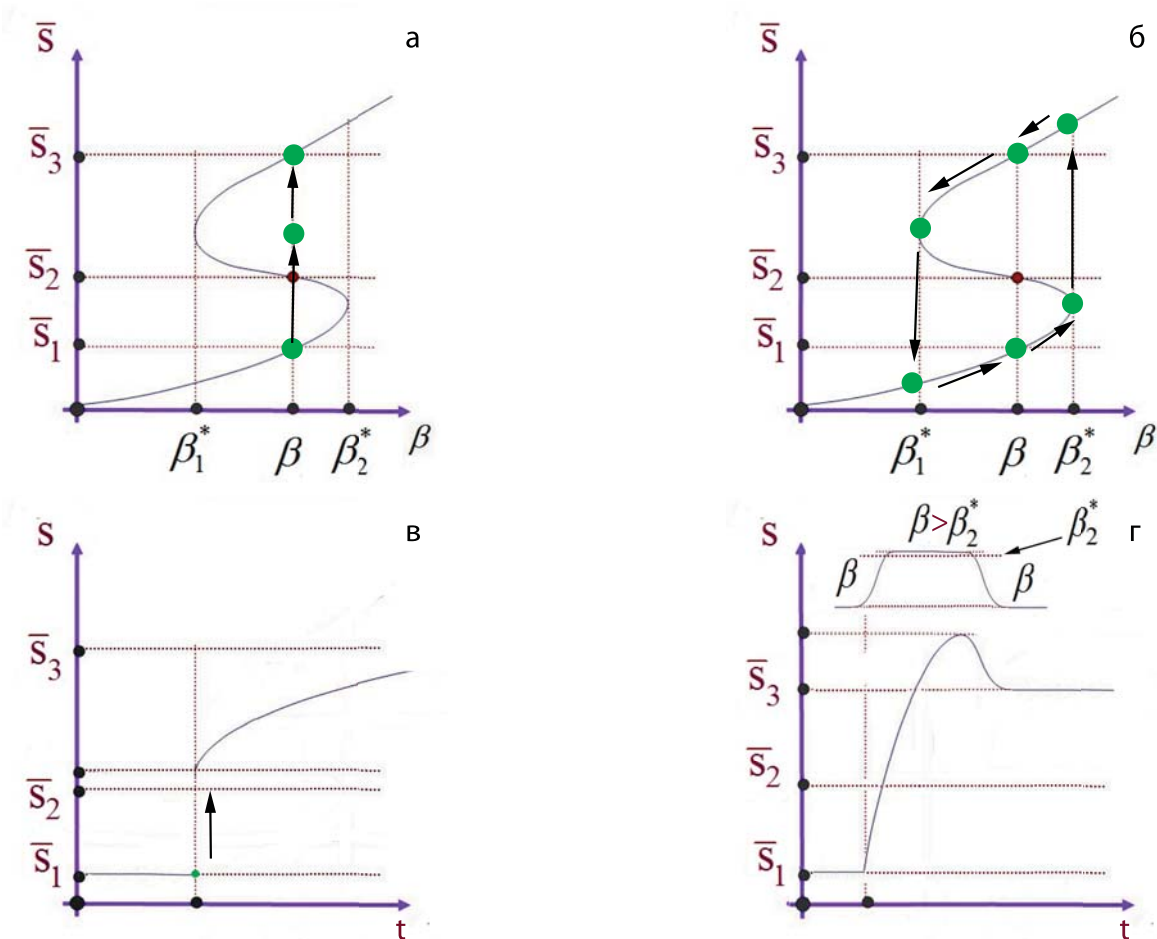


Рис. 4.5. Силовое (а, в) и параметрическое (б, г) переключение триггера

Если постепенно увеличивать β , то система будет переходить в новое стационарное состояние, соответствующее измененному значению β . При этом, поскольку мы предполагаем малые изменения параметра, то и новое стационарное значение будет оставаться вблизи исходного значения \bar{s}_1 . Другими словами, стационарная точка будет двигаться по нижней ветви бифуркационной кривой (см. рис. 5.8 б). Так будет продолжаться, пока стационарная точка не совпадет с правой бифуркационной точкой, соответствующей β_2^* . Дальнейшее как угодно малое увеличение параметра $\beta > \beta_2^*$ приведет к исчезновению нижней ветви стационарной кривой и автомати-

ческому перескоку стационарной точки на верхнюю ветвь бифуркационной кривой в область притяжения стационарной точки \bar{s}_3 (см. рис. 5.8 б). Теперь, уменьшая обратно значение параметра β , стационарная точка будет уже двигаться по верхней ветви стационарной кривой, приближаясь к значению \bar{s}_3 , соответствующему исходному значению параметра β .

Заметим, что параметрический сценарий переключения состояния \bar{s}_1 в \bar{s}_3 не предполагает скачкообразного изменения состояния $s(t)$ во времени, что может быть более естественным способом переключения биологической системы, чем резкое изменение s , подразумеваемое при силовом переключении (см. рис. 5.8 в, г). Так, например, если хотят сбить высокую температуру больного, ему дают лекарства (меняют параметры метаболических реакций), а не окунают его в холодную ванну.

Петля, которую совершает стационарное состояние при циклическом изменении параметра, называется петлей *гистерезиса системы* [3].

Наличие петли гистерезиса при циклическом изменении условий функционирования системы является характерной особенностью поведения биологических систем, свидетельствующей о наличии *эффектов памяти* в этих системах. Другими словами, система помнит, в каком начальном состоянии она находилась до изменения условий и «траектория» ее перехода в новое состояние зависит от предыстории ее функционирования.

Мы рассмотрели простой пример биохимической системы, имеющий несколько состояний равновесия, часть из которых – устойчивые. Устойчивые состояния равновесия отделены друг от друга неустойчивыми, что позволяет системе переключаться из одного устойчивого режима функционирования в другой за счет изменения начальных (или в какой-либо другой момент времени) условий функционирования. Кроме того, количество точек покоя системы может варьировать в зависимости от параметров, при этом при определенных значениях параметров – бифуркационных, система становится очень чувствительной к их изменению. Как угодно малое изменение параметра в ту или другую сторону приводит к качественному изменению режима функционирования системы. Это позволяет осуществ-

лять переключения между качественно различными состояниями этой системы за счет изменения параметров, достигая бифуркационных значений, а затем возвращая исходные значения параметров.

Таким образом, рассмотренная система, как и многие другие биологические системы обладает *триггерными свойствами* – способностью к переключениям к разным режимам функционирования в зависимости от условий. В следующих разделах, мы приведем некоторые другие примеры биологических триггерных систем. Из рассмотренного примера видно, что необходимым условием для адекватного описания триггерных свойств биологической системы в рамках модели является ее *нелинейность*.

4.2. Немного о бифуркации

Рассмотрим более подробно нашу систему при бифуркационном значении параметра, например, при $\beta = \beta_2^*$, когда точки покоя \bar{s}_1 и \bar{s}_2 сливаются в одну, назовем ее \bar{s}_2 .

Нетрудно убедиться (см. рис. 4.6), что в точке покоя \bar{s}_2 имеем $f'(\bar{s}_2) = 0$, следовательно, для анализа поведения уравнения в окрестности этой точки покоя недостаточно пользоваться системой первого приближения, а следует рассматривать более старшие члены в разложении правой части системы в ряд в окрестности точки покоя.

Кроме того, мы видели, что как угодно малое изменение параметра по сравнению с β_2^* приводит либо к раздвоению точки покоя при $\beta < \beta_2^*$, либо к ее исчезновению $\beta > \beta_2^*$. Другими словами, наша система является структурно неустойчивой при $\beta = \beta_2^*$.

Проанализируем аналогичную ситуацию в более общем случае скалярного уравнения вида:

$$x' = f(x, c), \quad (4.6)$$

где c – параметр уравнения.

Без ограничения общности можно рассмотреть случай, когда при $\bar{c} = 0$ точка покоя $\bar{x} = 0$, т.е. $f(0, 0) = 0$.

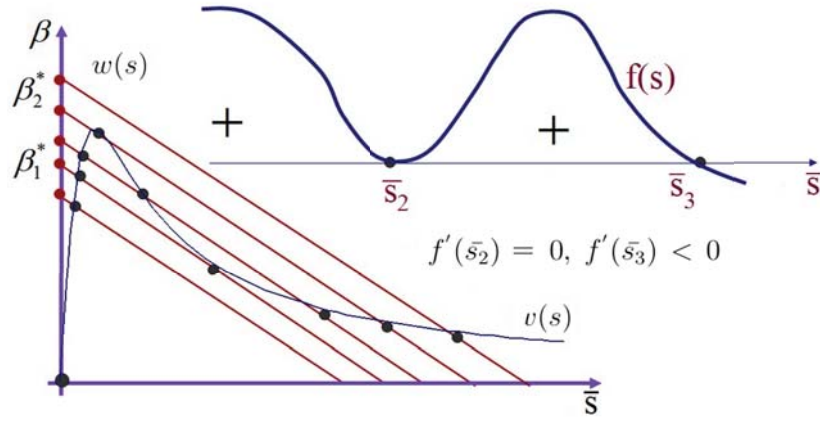


Рис. 4.6. Вид функции $f(s)$ при $\beta = \beta_2^*$

Действительно, рассмотрим уравнение $y' = g(y; b)$, для которого параметру b^* соответствует точка покоя y^* , т.е. $g(y^*, b^*) = 0$. Тогда заменой переменных $x = y - y^*$, $c = b - b^*$ этот случай сведется к предыдущему:

$$x' = (x + y^*)' = g(x + y^*, c + b^*) = f(x, c),$$

где при $\bar{x} = 0$, $\bar{c} = 0$ $f(0, 0) = g(y^*, b^*) = 0$.

Итак, рассмотрим, как будет изменяться поведение системы x вблизи точки покоя $\bar{x} = 0$ при изменении параметра $c \neq 0$ около $\bar{c} = 0$. В первую очередь, нас интересует, сколько точек покоя имеет исходная системы при $x \sim 0$ и $c \sim 0$.

Опять воспользуемся разложением в ряд Тейлора:

$$\begin{aligned} x' &= f(x, c) = f(\bar{x}, \bar{c}) + f'_x(\bar{x}, \bar{c}) \cdot (x - \bar{x}) + f'_c(\bar{x}, \bar{c}) \cdot (c - \bar{c}) + \dots = \\ &= a \cdot x + b \cdot c + \dots, \end{aligned}$$

где $a = f'_x(0, 0)$, $b = f'_c(0, 0)$.

Если $a \neq 0$, то нам для анализа исходной системы (4.6) достаточно линейного разложения. Получившаяся система

$$x' = a \cdot x + b \cdot c$$

есть система первого приближения для (4.6).

Ее единственная точка покоя:

$$x^* = -\frac{b \cdot c}{a}.$$

Можно показать, что и у исходной системы (4.6) в достаточно малой окрестности нуля – единственная точка покоя \hat{x} , которая близка к точке x^* и, следовательно, в силу малости $c \neq 0$ близка к \bar{x} .

Покажем это. При зафиксированном значении c стационарная точка \hat{x} должна удовлетворять уравнению:

$$f(\hat{x}, c) = 0.$$

Пусть

$$\hat{x} = x^* + \varepsilon$$

.

Подставим его в функцию $f(x, c)$, для которой справедливо следующее разложение:

$$f(x, c) = a \cdot x + b \cdot c + O(x^2 + c^2),$$

здесь $O(x^2 + c^2)$ – малая величина большего порядка малости, чем малые x и c .

Получим:

$$f(\hat{x}, c) = a \cdot (x^* + \varepsilon) + b \cdot c + O(\hat{x}^2 + c^2) = (a \cdot x^* + b \cdot c) + a \cdot \varepsilon + O(\hat{x}^2 + c^2) = 0.$$

Отсюда с учетом определения x^* получим, что

$$\varepsilon = \frac{O(\hat{x}^2 + c^2)}{a},$$

т.е. ε мало и, следовательно, \hat{x} близко и к x^* , и к \bar{x} .

Покажем, что корень \hat{x} – единственный в некоторой окрестности \bar{x} . Если бы было два корня, то производная между ними должна была бы менять

знак. А она – сохраняет знак, совпадающий со знаком a , поскольку

$$f'_x = a + O(x),$$

и окрестность можно выбрать так, чтобы в предположении достаточной гладкости $f(x) + O(x)$ не меняла знак.

Поскольку $f'_{\hat{x}} = a + O(\hat{x})$, она также имеет тот же знак, что и a , поэтому тип устойчивости точки покоя \hat{x} – такой же, что у \bar{x} .

Итак, при $a = f'_x(0, 0) \neq 0$ и количество, и тип точек покоя для системы $x' = f(x, c)$ не меняется по сравнению с этой системой при $\bar{c} = 0$ в окрестности $\bar{x} = 0$. Такая точка покоя \bar{x} называется гиперболической точкой покоя, а система $x' = f(x, c)$ – структурно устойчивой при \bar{c} .

Теперь рассмотрим случай, когда $a = 0$. При $\bar{x} = 0, \bar{c} = 0$: $f(0, 0) = 0, f'_x(0, 0) = 0$. В этом случае уже следует раскладывать правую часть $f(x, c)$ уравнения (4.6) в ряд Тейлора до производных второго порядка:

$$\begin{aligned} x' &= f(0, 0) + f'_x(0, 0) \cdot x + f'_c(0, 0) \cdot c + \\ &+ f''_{xx}(0, 0) \cdot \frac{x^2}{2} + f''_{xc}(0, 0) \cdot xc + f''_{cc}(0, 0) \cdot \frac{c^2}{2} + \dots = \\ &= b \cdot c + \alpha \cdot x^2 + \beta \cdot x \cdot c + \gamma \cdot c^2 + \dots, \end{aligned}$$

где параметры b, α, β, γ – соответствующие коэффициенты в разложении в ряд.

Нетрудно показать, что если в правой части полученного уравнения оставить только перечисленные слагаемые, за исключением слагаемого порядка $O(c^2)$, которым при c близком к нулю можно пренебречь, то это уравнение можно привести к эквивалентному:

$$\eta' = \pm \eta^2 \pm \mu, \quad \mu > 0.$$

Знак перед η^2 определяется знаком α , а знак перед μ определяется знаком $b \cdot c$.

Итак, при $\bar{c} = 0$ и $a = f'_x(0, 0) = 0$, исходное уравнение эквивалентно

уравнению:

$$\eta' = \pm\eta^2,$$

у которого единственная точка покоя равна нулю: $\bar{\eta} = 0$.

Нетрудно непосредственно убедиться, что эта точка – неустойчивая, точнее полуустойчивая. Так, например, для уравнения

$$\eta' = -\eta^2$$

при $\eta_0 < 0$ получим, что $\eta(t) \longrightarrow \infty$, а при $\eta_0 > 0$, $\eta(t) \longrightarrow 0$.

При $\bar{c} \neq 0$ и $a = f'_x(0, 0) = 0$, исходное уравнение эквивалентно уравнению:

$$\eta' = \pm\eta^2 + \mu, \quad \mu \in R.$$

Несложный анализ показывает, что у этого уравнения либо нет точек покоя, либо их две. Например, для уравнения

$$\eta' = -\eta^2 + \mu = \varphi(\eta)$$

при $\mu > 0$ имеем 2 точки покоя:

$$\bar{\eta}_{1,2} = \pm\sqrt{\mu}.$$

Проверим эти точки на устойчивость:

$$1) \bar{\eta}_1 = +\sqrt{\mu} \Rightarrow \varphi'_{\eta_1}(\bar{\eta}_1) = -2 \cdot \bar{\eta}_1 < 0,$$

следовательно, $\bar{\eta}_1$ – устойчивая точка покоя.

$$2) \bar{\eta}_2 = -\sqrt{\mu} \Rightarrow \varphi'_{\eta_2}(\bar{\eta}_2) = -2 \cdot \bar{\eta}_2 > 0,$$

$\bar{\eta}_2$ – неустойчивая точка покоя (см. рис. 4.7).

В случае $\mu < 0$ действительных точек покоя нет (см. рис. 4.7).

Таким образом, для эквивалентного уравнения $\eta' = \pm\eta^2 + \mu$, $\mu \in R$ при $\mu = 0$ имеем *бифуркацию* (букв. «раздвоение») типа **складка** [3, 7].

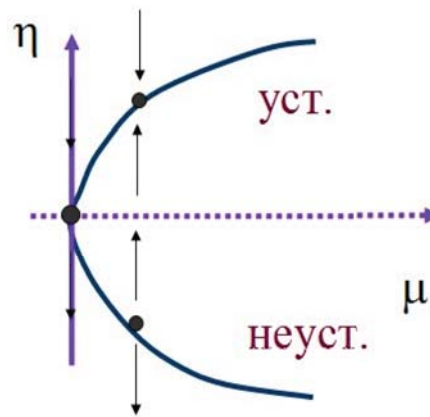


Рис. 4.7. Бифуркация – складка

Если мы посмотрим на бифуркационную диаграмму для нашей исходной задачи (рис. 4.3), мы видим, что $\beta = \beta_1^*$ и $\beta = \beta_2^*$ – точки бифуркации для нашей системы, при переходе через которые качественно меняется структура решения, количество точек покоя удваивается или исчезает.

4.3. Модель генетического триггера

4.3.1. Генетический код

В живой клетке непрерывно идут разнообразные биохимические процессы, среди которых один из важнейших – это синтез белков – основного «строительного материала» живых организмов. Белки выполняют множество функций в клетке. Белки непрерывно создаются и распадаются в клетке. Синтез белка является очень сложным процессом. Естественно возникает вопрос об исследовании механизма, управляющего по определенной программе этим синтезом, заложенного в клетке и передаваемого каким-то образом из поколения в поколение от родительских организмов к потомкам.

Носителями наследственной информации в клетке являются молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). С химической точки зрения ДНК – это длинная полимерная молекула, состоящая из повторяющихся блоков – нуклеотидов. Условно молекулы ДНК можно представить как последовательность символов четырех типов, скажем ААГ-

ЦАТЦГ... (обозначения входящих в ДНК оснований: А – аденин, Г – гуанин, Т – тимин, Ц – цитозин).

С другой стороны, белковые молекулы представляют собой цепочки разной длины, составленные из аминокислот 20 различных типов. Процесс синтеза каждой белковой молекулы задается молекулой ДНК, то есть последовательность чередования 20 аминокислот в белке определяется чередованием 4 оснований в ДНК. Ясно, что аминокислота не может определяться одним основанием, т.к. аминокислот 20, а оснований только 4. Нельзя кодировать аминокислоты и парами оснований, т.к. число таких пар всего 16. Таким образом, каждая аминокислота должна кодироваться по крайней мере тройкой оснований (триплетом), число которых равно 64. Действительно, в 60-х годах прошлого столетия было показано, что последовательность аминокислот в белке определяется неперекрывающимися триплетами оснований в ДНК, т.е. код действительно оказался трехбуквенным.

Ф. Крик с соавторами предположили четыре свойства генетического кода:

1. три азотистых основания (триплет) кодируют одну аминокислоту,
2. триплеты генетического кода не перекрываются,
3. последовательности триплетов считываются с определенной начальной точки, знаки препинания внутри кодирующей последовательности отсутствуют,
4. генетический код вырожден – одна аминокислота может быть закодирована разными триплетами.

За расшифровку генетического кода были получены следующие Нобелевские премии по физиологии и медицине:

1. 1962 г. – Ф. Крик, Д. Уотсон, М. Уилкинс – «за открытия, касающиеся молекулярной структуры нуклеиновых кислот и их значения для передачи информации в живой материи»;

2. 1968 г. – Р. Холли, Х. Корана, М. Ниренберг – «за расшифровку генетического кода и его роли в синтезе белков».

Наряду с самим генетическим кодом большой интерес представляет и выяснение механизма его реализации. Каким именно образом информация, «записанная» в молекуле ДНК, считывается с нее и используется для построения соответствующей белковой молекулы? В общих чертах этот процесс выглядит следующим образом. На молекуле ДНК синтезируется одноцепочечная молекула рибонуклеиновой кислоты (РНК), которую называют информационной, или матричной РНК (м-РНК). Эта м-РНК попадает в рибосому – особую внутриклеточную частицу, где и происходит синтез белка. Отдельные аминокислоты, имеющиеся в цитоплазме, присоединяются к молекулам особой, так называемой транспортной РНК. С помощью этой РНК они доставляются к рибосоме и используются там как «строительный материал».

4.3.2. Управление синтезом белка в бактериальных клетках

Из большого числа различных внутриклеточных биохимических процессов довольно детально исследован процесс синтеза белка в бактериальных клетках. Этот синтез идет под контролем генов – структурных единиц хромосом. В соответствии с информацией, записанной в данном гене, синтезируется соответствующая белковая цепь, например, образуются структурные белки, которые входят в состав клеточных органелл, или синтезируются ферменты – катализаторы внутриклеточных химических реакций. При этом активность соответствующих генов может регулироваться в зависимости от окружающих условий.

Детальный анализ этого процесса регуляции был выполнен Жакобом и Моно на примере ферментов кишечной палочки (бактерия, обитающая в кишечнике), переваривающих молочный сахар.

Жакоб и Моно высказали гипотезу, что в клетке существует два типа генов: структурные гены, которые заведуют синтезом специфических белков, и управляющие гены, контролирующие активность структурных генов. Та-

ким образом, система регуляции синтеза белка представляет иерархическую систему, состоящую по крайней мере из двух уровней: структурных генов и управляющих генов. Управляющие гены в свою очередь делятся на два типа. Гены первого типа (гены-опероны) расположены вблизи структурных генов и играют роль выключателей. При одном положении гена-оперона структурный ген ведет синтез белка, а при другом синтез белка блокируется. Управляющие гены второго типа (гены-регуляторы) включают или выключают ген-оперон. Это происходит так. Под действием гена-регулятора синтезируется особый белок – репрессор. Этот белок переводит ген-оперон в состояние «выключено».

4.3.3. Генетический триггер Жакоба и Моно

Рассмотрим модель биохимической регуляции белкового синтеза, предложенную Жакобом и Моно в 1962 г. [50] и математически разработанную Д.С. Чернавским в 1967 г. Эта модель показывает принципиальные возможности триггерных систем [33]. Она легла в основу целой серии более подробных и конкретных моделей. Подробный вывод модели описан в монографии Ю.М. Романовский, Н.В. Степанова, Д.С. Чернавский [23].

Схема взаимной регуляции двух систем синтеза ферментов изображена на рисунке 4.8.

Процесс транскрипции, т.е. синтез молекул м-РНК, ответственных за синтез белка и несущих информацию о его структуре, происходит на комплиментарном участке гена – *структурном гене* G (см. схему на рис. 4.8). Перед G имеется участок ДНК, называемый *опероном* (оперативный ген) O , он ответственен на начало транскрипции. Оперон взаимодействует с ферментом – РНК-полимеразой, которая «садится» на оперон и приобретает конформацию, необходимую для дальнейшего продвижения вдоль цепи ДНК и синтеза цепочки м-РНК. Одна и та же молекула РНК-полимеразы может, взаимодействуя с различными участками цепи ДНК, способствовать транскрипции разных последовательностей РНК. С другой стороны, оперон может взаимодействовать с другими молекулами – *репрессорами* (r)

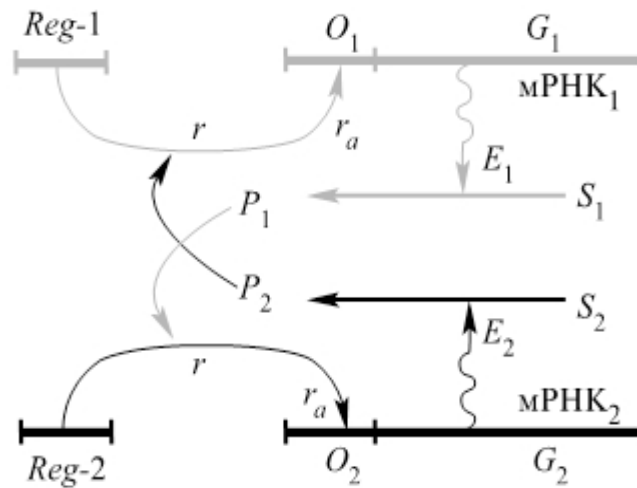


Рис. 4.8. Схема синтеза двух ферментов по Жакобу и Моно. м-РНК ответственна за синтез белка E . Транскрипция м-РНК не происходит, пока оперон O не свяжется с РНК-полимеразой. Этому может помешать репрессор r , который синтезируется геном-регулятором Reg . Для того чтобы активизировать репрессор r_a , необходим корепрессор P , который является продуктом аналогичного цикла синтеза другого белка [27]

– белками, ингибирующими посадку РНК-полимеразы на оперон и тем самым блокирующими транскрипцию. Для того чтобы репрессор играл регуляторную роль, он должен специфически подходить определенному участку оперона, иначе он блокировал бы весь белковый синтез. Репрессор – белковая молекула и для ее синтеза требуется собственный *ген-регулятор* – Reg на схеме. Активность репрессоров, т.е. их способность связываться с опероном зависит от наличия в плазме клетки некоторых низкомолекулярных соединений – *корепрессоров* или *индукторов*, которые соединяясь с репрессором либо активируют его и тем самым блокируют синтез белка, либо инактивируют репрессор и тем самым индуцируют синтез белка. Индукторами служит для своего рода сбора информации о целесообразности синтеза белка E . Поэтому взаимодействие репрессора с низкомолекулярными веществами может происходить вдали от участков ДНК и отражает состав веществ в плазме. Несмотря на кажущуюся перегруженность схемы, она оправдана и позволяет осуществлять регулируемый синтез белков в зависимости от состава низкомолекулярных соединений в плазме, которые не могли бы в силу своей простоты сами взаимодействовать с достаточно длинными участками ДНК, содержащими информацию

о специфичности того или иного оперона.

Переключения возможны в системе, содержащей по крайней мере две возможные цепочки синтеза белка (рис. 4.8). В такой модели ген-регулятор $Reg - i$ каждой системы синтезирует неактивный репрессор r_i . Этот репрессор, соединяясь с продуктом противоположной системы P_j , выступаящим в роли корепрессора для первой системы, образует активный комплекс r_a^i , который, обратимо реагируя с опероном O_i , блокирует транскрипцию м-РНК $_i$ и синтез белка E_i . Таким образом, продукт первой системы P_1 является корепрессором второй системы и, следовательно, ингибитором реакции образования продукта P_2 , а продукт второй системы P_2 - корепрессором первой системы и ингибитор образования продукта P_1 . При этом в процессе корепрессии могут принимать участие одна, две и более молекул продукта.

Очевидно, что при таком характере взаимодействий при интенсивной работе первой системы вторая заблокирована, и наоборот. Простейшая система уравнений, описывающая такой тип взаимодействий, после обезразмеривания имеет вид:

$$\begin{aligned}\frac{dx_1}{dt} &= \frac{A_1}{1 + x_2^n} - x_1, \\ \frac{dx_2}{dt} &= \frac{A_2}{1 + x_1^n} - x_2.\end{aligned}\tag{4.7}$$

Здесь x_1, x_2 - безразмерные концентрации продуктов $P_{1,2}$, параметры A_1, A_2 выражаются через параметры фермент-субстратных реакций с участием соответствующих синтезируемых белков E_i . Будем для простоты считать, что эти реакции в отсутствии ингибиторов происходят с постоянными скоростями. Показатель степени n показывает, сколько молекул корепрессора (неконкурентного ингибитора) необходимо для активации репрессора и его взаимодействия с опероном для блокировки синтеза м-РНК. Видно, что в этой системе x_1, x_2 выступают в качестве неконкурентных ингибиторов и (как было нами показано ранее в разделе 3) влияют на максимальную скорость образования продукта в противоположной цепи.

В том случае, когда обе системы синтеза предполагаются идентичными, параметры A_1 и A_2 равны и модель симметрична.

4.3.4. Кооперативность и триггерные свойства модели Жакоба-Моно

Пусть $A_1 = A_2 = A$. Рассмотрим поведение системы при разных значениях показателя n .

При $n = 1$ система имеет одно симметричное стационарное решение $\bar{x}_1 = \bar{x}_2 = \bar{x}$, определяемое как единственный положительный корень системы уравнений для стационарных концентраций:

$$\bar{x}^2 + \bar{x} - A = 0.$$

Главные изоклины и направление фазовых траекторий системы показаны на рисунке 4.9. Видно, что система имеет одну точку покоя – устойчивый узел; поэтому такая система не может работать как триггер.

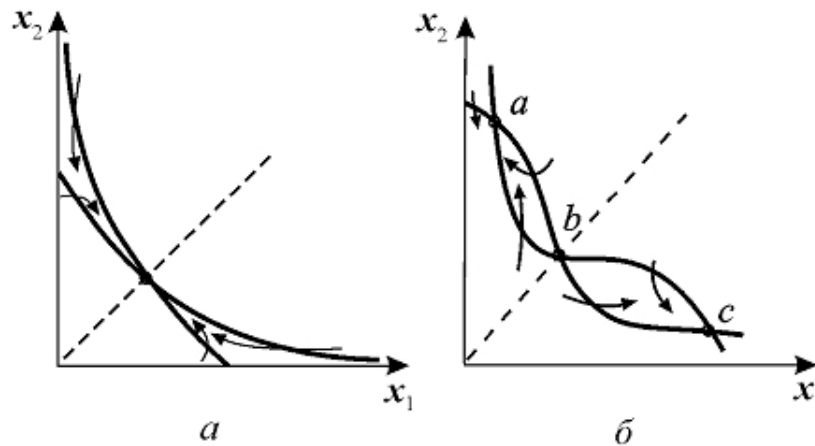


Рис. 4.9. Фазовый портрет системы (4.7) при $n = 1$ (слева) и $n = 2$ справа. (а) При $n = 1$ система имеет единственное устойчивое стационарное состояние. (б) При $n = 2$ в системе либо одно стационарное состояние (при $A < 2$), либо три стационарных состояния (при $A > 2$), два из которых (а и с) – устойчивые узлы, а третье (b) – седло. Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

При $n = 2$ число стационарных состояний равно числу положительных вещественных корней уравнения:

$$\frac{A}{1 + A^2/(1 + \bar{x}^2)^2} - \bar{x} = 0. \quad (4.8)$$

При $A < 2$ имеется одно стационарное решение $x = \bar{x} < 1$ и оно устойчиво – типа устойчивый узел. При $A > 2$ появляются три стационарных состояния (см. рис. 4.9 б), система становится триггерной. Величина $A = 2$ – бифуркационное значение параметра, при котором в системе первого приближения появляется нулевое собственное число, а при переходе через это значение параметра устойчивый узел преобразуется в седло, и возникают еще два устойчивых узла.

Таким образом, триггерный режим в системе возникает в том случае, когда в корепрессии участвуют две (или более) молекулы продукта ($n > 2$) и когда уровень базового метаболизма достаточно высок ($A > 2$).

Рассмотрим теперь несимметричный случай: $A_1 \neq A_2$.

При $n \geq 2$ и определенных значениях отношения $A_1/A_2 > \gamma$ система также приобретает триггерные свойства. На фазовой плоскости такая система имеет две устойчивые особые точки, между которыми расположено седло. Значение параметра γ является бифуркационным, причем бифуркация имеет триггерный характер (образуется седло). Отношение A_1/A_2 служит управляющим параметром, изменение значения которого может привести к смене стационарного режима в системе. Величина параметров A_1 , A_2 зависит от многих биохимических характеристик: скорости снабжения субстратами, активности ферментов, времени жизни ферментов, m-РНК и продуктов и проч.

4.3.5. Способы переключения триггера

Рассмотрим фазовый портрет нашей системы, обладающей при некоторых $A_1/A_2 > \gamma$ двумя устойчивыми стационарными состояниями (см. рис. 4.10). Пусть $x = x_1, y = x_2$. Здесь a, c – устойчивые стационарные состояния, b – седло.

Если начальное положение изображающей точки расположено левее сепаратрисы седла (пунктирная линия), система находится в области притяжения особой точки a и со временем стремится к этому устойчивому стационарному состоянию. Из точек, лежащих правее сепаратрисы, система

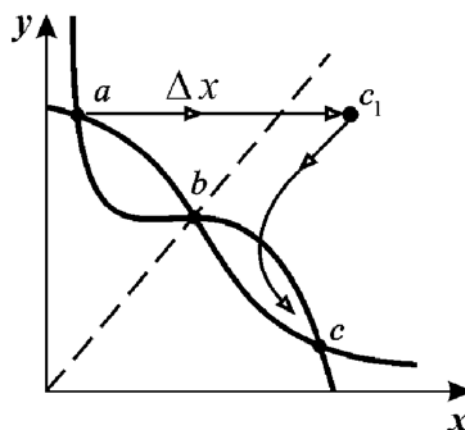


Рис. 4.10. Триггерная система. Жирными линиями показаны главные изоклины. Пунктирной линией показана сепаратриса, отделяющая области влияния двух устойчивых стационарных состояний a и c . Стрелка показывает процесс силового переключения триггера. Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

будет двигаться к особой точке c . Рассмотрим возможные способы переключения системы из режима a в режим c .

Допустим, что система функционирует в устойчивом режиме a , т.е. преимущественно синтезируется белок второго типа и соответственно производится продукт второй цепочки ($y > x$). Необходимо перевести систему в другой устойчивый режим c , где будет преимущественно синтезироваться белок первого типа и производиться продукт первой цепочки ($x > y$). Это можно сделать двумя способами.

1. Силовое переключение. За счет внешнего воздействия можно так изменить значения переменных x и y , например резко увеличив y , что это переведет систему в некую точку c_1 , находящуюся по правую сторону сепаратрисы седла в области притяжения устойчивого стационарного состояния c , к которому система перейдет сама с течением времени и окажется в требуемом режиме. В случае химической реакции для такого переключения можно изменить значения концентраций (например, добавить определенное количество вещества x).

Силовой способ переключения триггера называется также специфическим [20, 27].

На фазовом портрете (см. рис. 4.10) силовое (специфическое) переключение показано стрелкой. Кинетика переменных во времени при таком пе-

реключения показана на рисунке 4.11.

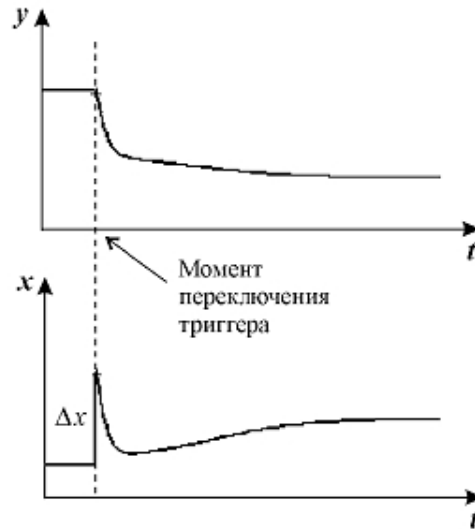


Рис. 4.11. Поведение переменных во времени при силовом переключении после добавления в систему вещества x в количестве, достаточном для переключения системы из режима a в режим c . Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

2. Параметрическое переключение. Другим, более тонким, является способ параметрического неспецифического переключения [20, 27]. При таком способе переключения непосредственному воздействию подвергаются не переменные, а параметры системы. Это может быть достигнуто разными способами, например, изменением скорости поступления субстрата, температуры, pH и др.

Процесс параметрического переключения триггерной системы на фазовой плоскости показан на рисунке 4.12. Его сущность состоит в использовании характерной зависимости фазового портрета от некоторого управляющего параметра системы, в случае рассматриваемой модели Жакоба-Моно этим параметром служит соотношение параметров A_1/A_2 . На рисунке 4.12 трансформация портрета может быть вызвана, например, увеличением параметра A_1 при зафиксированном значении параметра A_2 или наоборот, уменьшением параметра A_2 при фиксированном значении A_1 . Другими словами, мы меняем условия функционирования генетической системы в пользу преимущественного производства продукта первого типа. С изменением этого параметра фазовый портрет претерпевает последовательность превращений I-IV.

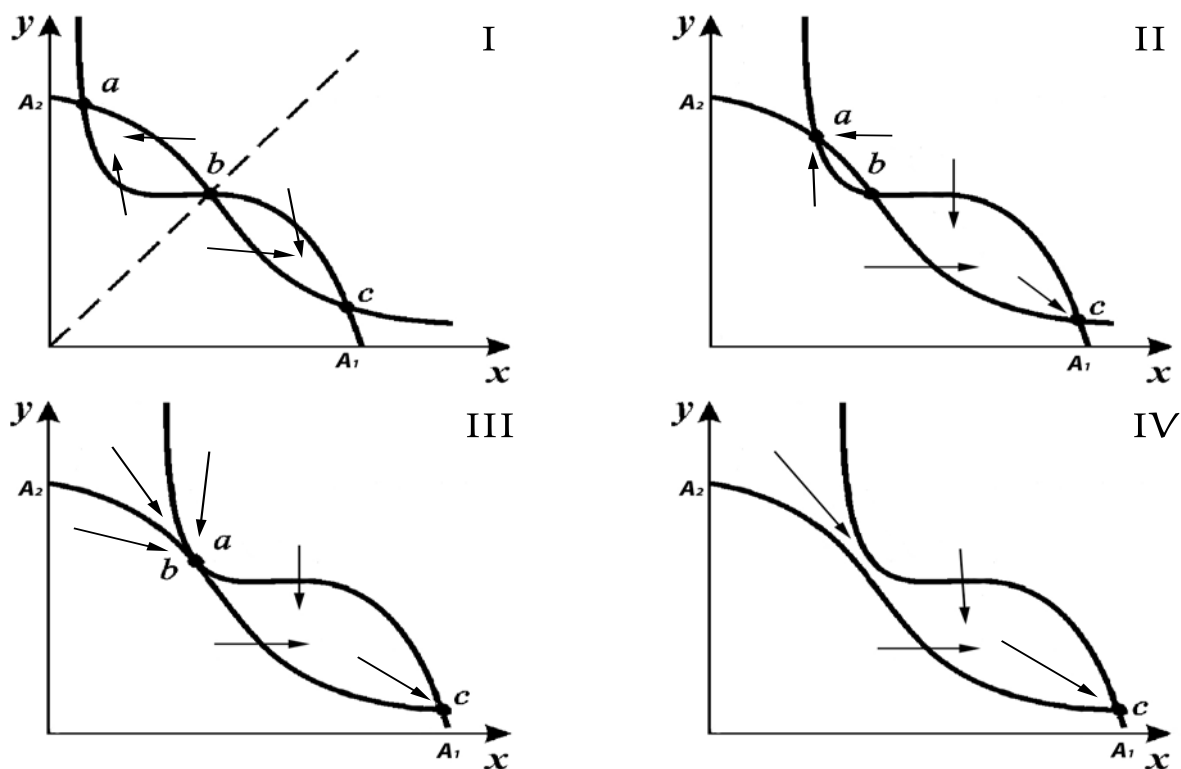


Рис. 4.12. Параметрическое переключение триггера. Последовательные стадии трансформации фазового портрета. Стрелками обозначено направление фазовых траекторий

При изменении управляющего параметра система, находившаяся в начале процесса переключения в точке 0 с соответствующими координатами x и y на фазовой плоскости (I), окажется вследствие изменения фазового портрета в области притяжения устойчивого узла c (IV), куда она самопроизвольно перейдет (через стадии, изображенные на рис. (II) и (III)).

На стадии (II) точки покоя устойчивый узел a и седло b приближаются друг к другу, а на стадии (III) они сливаются в одну полуустойчивую точку седло-узел. На стадии (IV) в системе остается лишь одно устойчивое стационарное состояние, к которому и сходятся все фазовые траектории.

При изменении фазового портрета сами координаты особой точки c , конечно, также несколько изменятся, поскольку они зависят от параметров системы. При возвращении к прежним значениям управляющего параметра исходный фазовый портрет системы восстановится, но она уже будет работать в требуемом режиме c .

При этом, аналогично рассмотренному в предыдущем параграфе скалярному случаю, параметрическое переключение, в отличие от силового

не предполагает скачков состояния системы во времени (рис. 4.13). Переключение происходит на фоне постепенного, непрерывного изменения переменных, что кажется более естественным для биологической системы. Параметрический способ переключения реализуется при изменении лю-

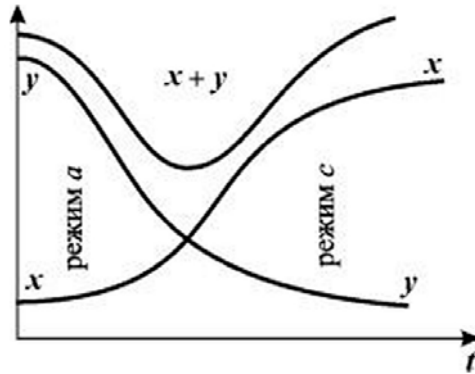


Рис. 4.13. Поведение переменных во времени при параметрическом переключении из режима a в режим c . Иллюстрации заимствованы из монографии Г.Ю. Ризниченко [20]

бой генетической программы, он может также иметь место при изменении внешних условий, приводящих к изменению управляющего параметра системы.

4.4. Модель конкурирующих видов. Пример популяционного триггера

Приведем другой пример системы триггерного типа – модели конкурирующих видов.

В соответствии с гипотезами Вольтерра [92] взаимодействие двух видов, численности которых x_1 и x_2 , могут быть описаны уравнениями:

$$\begin{aligned}\frac{dN_1}{dt} &= a_1 N_1 + b_{12} N_1 N_2 - c_1 N_1^2, \\ \frac{dN_2}{dt} &= a_2 N_2 + b_{21} N_1 N_2 - c_2 N_2^2.\end{aligned}\tag{4.9}$$

Здесь параметры a_i – константы собственной скорости роста видов, c_i – константы самоограничения численности (внутривидовой конкуренции), b_{ij} константы взаимодействия видов, $(i, j = 1, 2)$. Знаки этих коэффициентов определяют тип взаимодействия.

Видно, что в отсутствии взаимодействия ($b_{ij} = 0$) динамика численности каждого из видов описывается рассмотренным ранее уравнением Ферхюльста, описывающим рост численности популяции с насыщением вследствие самоограничения.

Е. Одум, учитывая модели Вольтерра, предложил классификацию видов взаимодействия по их результатам [76]. Согласно этой классификации, оценивать взаимоотношения следует как положительные, отрицательные или нейтральные в зависимости от того, возрастает, убывает или остается неизменной численность одного вида в присутствии другого вида. Тогда основные типы взаимодействий могут быть представлены в виде таблицы 4.1.

Таблица 4.1. Типы взаимодействий в модели Вольтерра

Симбиоз	+	+	$b_{12} > 0, b_{21} > 0$
Хищник-Жертва	+	-	$b_{12} > 0, b_{21} < 0$
Конкуренция	-	-	$b_{12} < 0, b_{21} < 0$

Рассмотрим тип взаимодействия «конкуренция». Для изучения конкуренции видов ставились эксперименты на самых различных организмах. Обычно выбирают два близкородственных вида и выращивают их вместе и по отдельности в строго контролируемых условиях. Через определенные промежутки времени проводят полный или выборочный учет численности популяции. Регистрируют данные по нескольким повторным экспериментам и анализируют. Исследования проводили на простейших (в частности, инфузориях), многих видах жуков рода *Tribolium*, дрозофилах, пресноводных ракообразных (дафниях). Много экспериментов проводилось на микробных популяциях. В природе также проводили эксперименты, в том числе на планариях (Рейнольдс), двух видах муравьев (Понтин) и др [47].

Уравнения конкуренции имеют вид:

$$\begin{aligned}\frac{dx_1}{dt} &= x_1(a_1 - b_{12}x_2 - c_1x_1), \\ \frac{dx_2}{dt} &= x_2(a_2 - b_{21}x_1 - c_2x_2).\end{aligned}\tag{4.10}$$

Рассмотрим, какие стационарные решения может иметь данная система. Поведение фазовых траекторий системы дает наглядное представление о возможных исходах конкуренции (рис. 4.14).

Приравняв нулю правые части уравнений системы (4.10):

$$\begin{aligned}x_1(a_1 - b_{12}x_2 - c_1x_1) &= 0, \\ x_2(a_2 - b_{21}x_1 - c_2x_2) &= 0.\end{aligned}$$

При этом получим уравнения для главных изоклин системы:

$$x_2 = \frac{-b_{21}x_1 + a_2}{c_2}, \quad x_2 = 0$$

– изоклины горизонтальных касательных,

$$x_2 = \frac{-c_1x_1 + a_1}{b_{12}}, \quad x_1 = 0$$

– изоклины вертикальных касательных.

Точки попарного пересечения изоклин вертикальных и горизонтальных касательных системы представляют собой стационарные решения системы уравнений (4.10), а их координаты суть стационарные численности конкурирующих видов.

Нетрудно убедиться, что в зависимости от соотношения коэффициентов системы у нее может быть различное количество стационарных точек.

У системы всегда есть неустойчивая точка покоя типа неустойчивый узел –

$$\bar{x}_1^{(1)} = 0, \quad \bar{x}_2^{(1)} = 0.$$

Стационарные точки на пересечении с одной из осей, т.е. когда стационарная численность одного из видов равна нулю, имеют следующие коор-

динаты:

$$\bar{x}_1^{(2)} = 0, \bar{x}_2^{(2)} = \frac{a_2}{c_2}, \quad (4.11)$$

и

$$\bar{x}_1^{(3)} = \frac{a_1}{c_1}, \bar{x}_2^{(3)} = 0. \quad (4.12)$$

Стационарное состояние (4.11) представляет собой седло при $a_1 > b_{12}/2$ или устойчивый узел при $a_1 < b_{12}/2$. Это условие означает, что вид вымирает, если его собственная скорость роста меньше некоторой критической величины. Стационарное решение (4.12) – седло при $a_2 > b_{21}/c_1$ или устойчивый узел при $a_2 < b_{21}/c_1$.

Другими словами, при конкуренции выживает только один из видов, а другой вымирает. При этом либо в системе возможен только один из указанных вариантов (имеется 2 точки покоя), либо возможны оба (4 точки покоя) и тогда система имеет возможность переключения между ними.

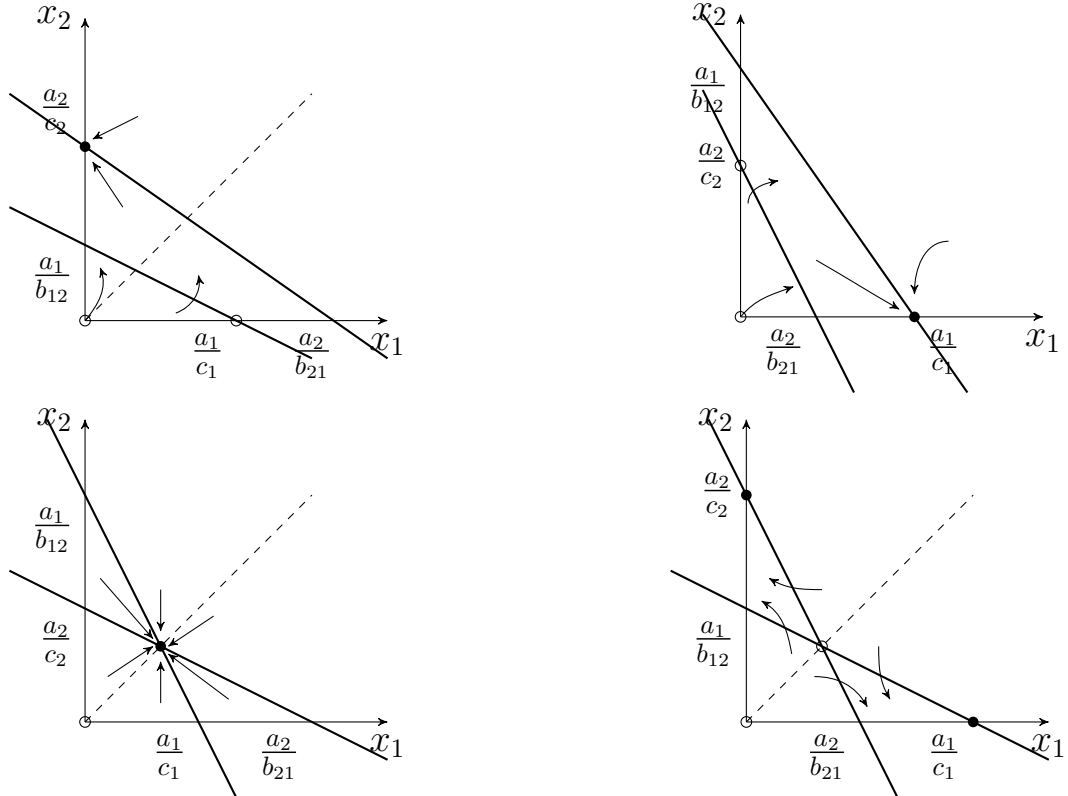


Рис. 4.14. Расположение главных изоклин на фазовом портрете вольтерровской системы конкуренции двух видов (4.10)

Наконец, при определенных условиях возможно существование стацио-

нарной точки с ненулевыми значениями для обоих видов:

$$\bar{x}_1^{(4)} = \frac{a_1 c_2 - a_2 b_{12}}{c_1 c_2 - b_{12} b_{21}}, \quad \bar{x}_2^{(4)} = \frac{c_1 b_{12} - b_{21} a_1}{c_1 c_2 - b_{12} b_{21}}. \quad (4.13)$$

Стационарное состояние (4.13) характеризует сосуществование двух конкурирующих видов и представляет собой устойчивый узел в случае выполнения соотношения:

$$\frac{a_1 b_{12}}{c_2} < a_1 < \frac{a_2 c_1}{b_{21}}$$

Отсюда следует неравенство:

$$b_{12} b_{21} < c_1 c_2, \quad (4.14)$$

позволяющее сформулировать условие сосуществования видов: произведение коэффициентов межпопуляционного взаимодействия меньше произведения коэффициентов внутривидового взаимодействия.

Действительно, пусть естественные скорости роста двух рассматриваемых видов a_1, a_2 одинаковы. Тогда необходимым для устойчивости условием будет

$$c_2 > b_{12}, \quad c_1 > b_{21}.$$

Эти неравенства показывают, что увеличение численности одного из конкурентов сильнее подавляет его собственный рост, чем рост другого конкурента. Если численность обоих видов ограничивается, частично или полностью, различными ресурсами, приведенные выше неравенства справедливы. Если же оба вида имеют совершенно одинаковые потребности, то один из них окажется более жизнеспособным и вытеснит своего конкурента.

Наконец, в случае, когда условие (4.14) не выполняется, точка покоя (4.13) является неустойчивым седлом. При этом по разные стороны этого седла имеются 2 стационарные точки покоя, соответствующие выживанию только одного из конкурирующих видов.

Расположение главных изоклин в системе (4.10) в данном случае изоб-

ражено на рис. 4.14. Видно, что исход конкуренции в этой системе зависит от начальных условий – а именно, куда по отношению к сепаратрисе седла попадет начальная точка, т.е. начальные численности видов.

Другими словами, в этом случае система демонстрирует триггерные свойства, и между ее возможными состояниями можно переключаться либо силовым, либо параметрическим способами, рассмотренными выше.

5. АВТОКОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

5.1. Взаимодействие видов типа хищник-жертва. Модель Лотки-Вольтерра

Известно, что численность многих видов животных циклически меняется. Например, в результате около столетней регистрации вылова канадской рыси и североамериканского зайца одной пушной компанией (рис. 5.1) были показаны близкие к периодическим колебания их численности с периодом около 10 лет. При этом максимум численности зайцев опережает, как правило, максимум численности рысей на один год. Можно полагать, что мы видим регулярные колебания, осложненные случайными факторами, связанными с погодой и проч [20].

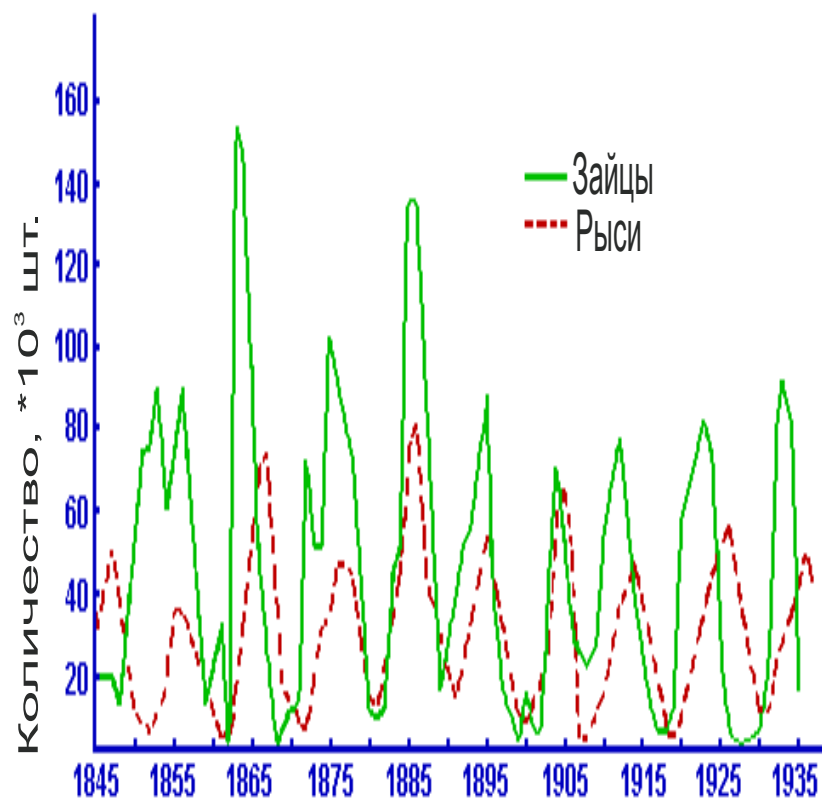


Рис. 5.1. Кривые численности зайца и рыси в Канаде по данным компании Гудзонова залива о числе заготовленных шкурок (по К.Вилли, В. Детье, 1974)

Во всех классических учебниках в течение многих лет колебательный

характер этих изменений приводили как подтверждение гипотез, положенных в основу модели Вольтерра, которую мы далее рассмотрим.

В. Вольтерра (*V. Volterra*, 1926 г.) предложил ставшую классической модель [9, 92], описывающую колебания улова рыбы в Адриатическом море. Интересно, что независимо от него (и даже чуть раньше) А. Лотка (*A.J. Lotka*, 1920, 1925 гг. [64, 65]) вывел точно такие же уравнения для описания некой химической реакции с осциллирующими концентрациями реагентов на основе закона действующих масс (см. схему этой реакции и ее обсуждение ниже).

В отличие от предыдущего параграфа, где мы подробно рассмотрели модель взаимодействия конкурирующих видов, здесь мы рассмотрим другой тип взаимодействия видов – хищник-жертва, при котором взаимодействие между популяциями приводит к снижению численности одной из них (жертвы), и, напротив, к увеличению другой (хищники).

При построении были сделаны следующие допущения:

1. Жертвы в отсутствии хищников размножаются по закону Мальтуса (экспоненциально), не испытывая ограничений в еде и т.д., т.е. пропорционально текущей численности.
2. Жертвы погибают при контакте с хищниками с константой скорости, пропорциональной численности хищников.
3. Хищники, поедая жертвы, воспроизводят потомство со скоростью, пропорциональной численности жертв: прирост потомства в пересчете на каждого хищника в единицу времени пропорционален количеству жертв.
4. Хищники в отсутствии жертв (еды) вымирают по закону Мальтуса (экспоненциально), т.е. пропорционально текущей численности с постоянной константой скорости.

Конечно, постулаты модели заведомо содержат грубые допущения, но эта модель способна описать ключевое свойство динамики численности

хищников и жертв - их периодические колебания. Она оказала исключительную роль в качестве отправной точки для дальнейших усовершенствований [31].

Выпишем систему уравнений Вольтерра:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= ax - bxy, \\ \frac{dy}{dt} &= cxy - dy.\end{aligned}\tag{5.1}$$

Видно, что эта система является частным случаем более общей системы взаимодействующих видов, выписанной в прошлом параграфе:

$$\begin{aligned}\frac{dN_1}{dt} &= a_1N_1 + b_{12}N_1x_2 - c_1N_1^2, \\ \frac{dN_2}{dt} &= a_2N_2 + b_{21}N_1x_2 - c_2N_2^2,\end{aligned}\tag{5.2}$$

где $a_1 > 0$, $b_{12} < 0$, $c_1 = 0$, $a_2 < 0$, $b_{21} > 0$, $c_2 = 0$.

Основной особенностью модели хищник-жертва являются разные знаки коэффициентов в членах, описывающих взаимодействие между популяциями (т.е. члены с произведением переменных), где отрицательный коэффициент соответствует жертвам ($b_{12} < 0$), а положительный – хищникам ($b_{21} > 0$).

Введем безразмерные переменные:

$$\tilde{x} = \frac{cx}{d}, \quad \tilde{y} = \frac{by}{a}, \quad \tilde{t} = at, \quad \omega^2 = \frac{d}{a}$$

.

Далее для краткости опустим знак \sim и будем рассматривать следующую систему для безразмерных переменных:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= x - xy = x(1 - y), \\ \frac{dy}{dt} &= \omega^2(xy - y) = \omega^2(x - 1)y.\end{aligned}\tag{5.3}$$

Рассмотрим фазовую плоскость системы и построим главные изоклины системы, а затем и ее фазовый портрет (рис. 5.2).

Изоклины вертикальных касательных – линии, где $dx/dt = 0$: $x = 0$ – ось ординат, и $y = 1$ – горизонтальная прямая.

В первом квадранте, где $x \geq 0$, $y \geq 0$, знак горизонтальной компоненты v_x вектора скорости в произвольной точке (x, y) определяется положением этой точки относительно изоклины $y = 1$: ниже нее при $y < 1$ $v_x > 0$, т.е. координата x в точках ниже изоклины в силу системы возрастает. Напротив, выше изоклины при $y > 1$ $v_x < 0$, т.е. координата x в точках выше изоклины в силу системы убывает (см. поведение горизонтальных стрелок – компонент векторного поля системы (5.3) – на рис. 5.2). Это поведение вытекает из постулатов системы. При достаточно малом количестве хищников (при $y < 1$) преобладает рождаемость жертв над их поеданием хищниками, а при достаточно большой численности хищников поедание начинает доминировать, что ограничивает рост численности жертв.

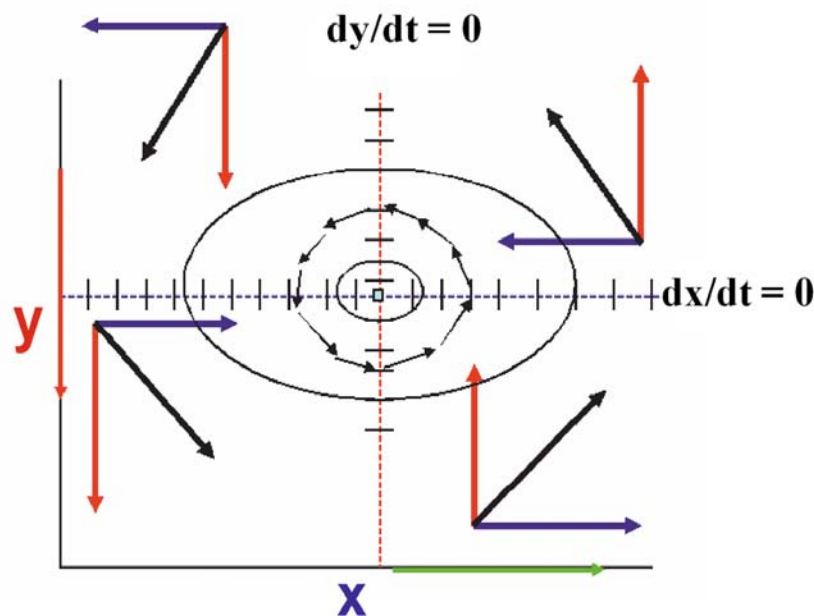


Рис. 5.2. Векторное поле и фазовый портрет системы хищник-жертва

На вертикальной оси координат $x = 0$ $v_x = 0$, т.е. фазовая точка движется по этой оси. При этом в отсутствии еды хищники не воспроизводятся и их численность убывает, т.е. фазовая точка стремится к нулю.

Изоклины горизонтальных касательных – линии, где $dy/dt = 0$: $x = 1$ –

вертикальная прямая, и $y = 0$ – ось абсцисс.

Аналогично можно показать, что левее изоклины $x = 1$ вертикальная компонента вектора скорости $v_y < 0$, т.е. координата y в точках (x, y) , расположенных слева изоклины горизонтальных касательных в силу системы убывает. Напротив, при $x > 1$ $v_y > 0$, т.е. координата y в точках (x, y) , расположенных справа изоклины горизонтальных касательных в силу системы возрастает (см. поведение вертикальных стрелок – компонент векторного поля системы (5.3) – на рис. 5.2)

На горизонтальной оси координат $y = 0$ $v_y = 0$, т.е. фазовая точка также движется по этой оси. При этом в отсутствии хищников жертвы экспоненциально размножаются и фазовая точка уходит по оси абсцисс в бесконечность.

Напомним, что точки пересечения главных изоклин дают точки покоя системы (рис. 5.2). Их две: $\bar{x} = 0, \bar{y} = 0$ и $\bar{x} = 1, \bar{y} = 1$.

Построенная картина векторного поля позволяет предположить, что точка $\bar{x} = 0, \bar{y} = 0$ – неустойчивая точка покоя типа седло, при этом прямая $x = 0$ – сепаратриса седла. Видно, что вокруг точки покоя $\bar{x} = 1, \bar{y} = 1$ фазовые траектории должны закручиваться. Действительно, можно показать, что точка покоя $(1, 1)$ – центр, а фазовые траектории вокруг нее замкнутые орбиты.

Выпишем систему первого приближения и найдем ее собственные числа в точках покоя.

Пусть ξ, η – отклонения x, y от их стационарных значений \bar{x}, \bar{y} :

$$\xi(t) = x(t) - \bar{x}, \quad \eta(t) = y(t) - \bar{y}.$$

Матрица системы первого приближения имеет вид:

$$A = \begin{pmatrix} f'_x(\bar{x}, \bar{y}) & f'_y(\bar{x}, \bar{y}) \\ g'_x(\bar{x}, \bar{y}) & g'_y(\bar{x}, \bar{y}) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 - \bar{y} & -\bar{x} \\ \omega^2 \bar{y} & \omega^2 (\bar{x} - 1) \end{pmatrix}.$$

В точке $\bar{x} = 0, \bar{y} = 0$ имеем:

$$A \begin{pmatrix} 1 & 0 \\ 0 & -\omega^2 \end{pmatrix},$$

следовательно, собственные значения – диагональные числа – действительные и разных знаков, значит, точка покоя – седло.

В точке $\bar{x} = 1, \bar{y} = 1$ имеем:

$$A \begin{pmatrix} 0 & -1 \\ \omega^2 & 0 \end{pmatrix},$$

следовательно, собственные значения есть корни характеристического уравнения $\det(A - \lambda E) = \lambda^2 + \omega^2 = 0$. Корни этого уравнения $\lambda = \pm \omega i$ – чисто мнимые, значит, точка покоя – центр. Как мы уже обсуждали в главе 3, фазовые траектории вокруг центра – эллипсы, т.е. замкнутые траектории. Это нетрудно показать непосредственно, если от системы первого приближения:

$$\begin{aligned} \frac{d\xi}{dt} &= -\eta, \\ \frac{d\eta}{dt} &= \omega^2 \xi, \end{aligned}$$

перейти к эквивалентному уравнению:

$$\frac{d\eta}{d\xi} = -\frac{\omega^2 \xi}{\eta},$$

в котором можно разделить переменные и решить его в явном виде:

$$\xi d\xi + \frac{1}{\omega^2} \eta d\eta = 0,$$

$$\xi^2 + \frac{\eta^2}{\omega^2} = C.$$

Полученное уравнение – есть уравнение эллипса. Таким образом, исследование системы первого приближения показывает, что точка покоя $(1, 1)$ – центр, и траектории вблизи нее являются концентрическими эллипсами.

Замкнутые фазовые траектории системы свидетельствуют о том, что переменные $x(t), y(t)$ совершают периодические колебания, т.е. существует такое $T(T > 0)$ – наименьшее число, для которого при любом t справедливы равенства:

$$x(t + T) = x(t), y(t + T) = y(t). \quad (5.4)$$

Период колебаний T решений системы первого приближения равен: $T = \frac{2\pi}{\omega}$. В размерных единицах $T = \frac{2\pi}{\sqrt{d/a}} = 2\pi\sqrt{a/d}$, т.е. зависит от констант скорости воспроизводства жертв и смертности хищников. Увеличение скорости роста жертв или уменьшение скорости смертности хищника увеличивает период колебаний.

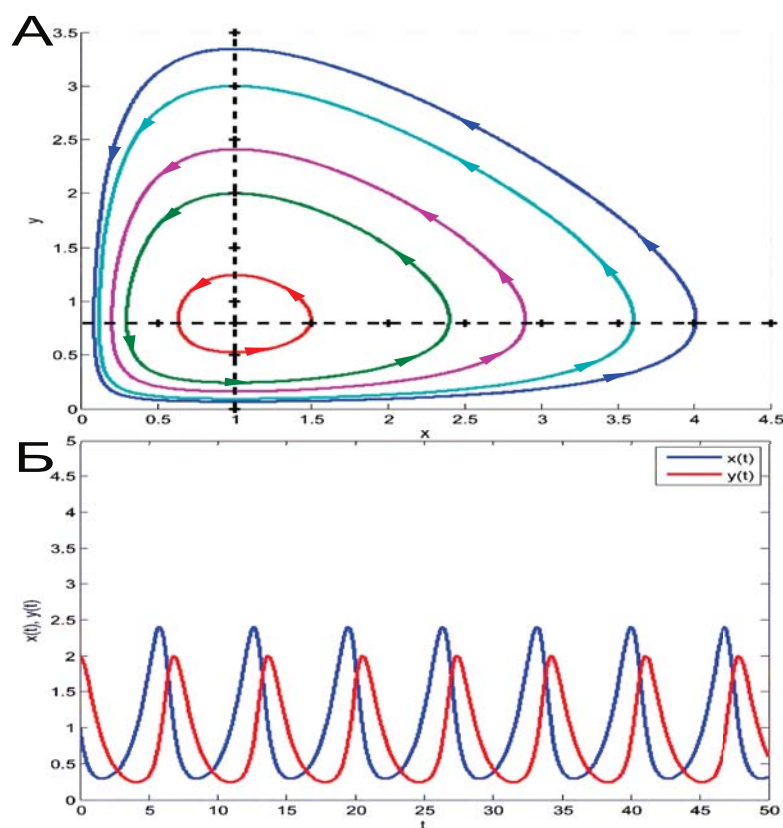


Рис. 5.3. Фазовый портрет системы хищник-жертва (а) и изменение численности обоих видов во времени — (б). Видно, что поскольку фазовые траектории – замкнутые линии, численности хищников и жертв совершают периодические колебания

Для исходной нелинейной системы (5.3) естественно ожидать, что траектории вблизи точки покоя также близки по форме к эллипсам, но оказывается, что и вдали от особой точки фазовые траектории – замкнутые, хотя их форма значительно отличается от эллипсоидальной (рис. 5.3), особенно

при приближении траекторий к осям координат.

Действительно, при $x > 0, y > 0$ от системы (5.3) можно перейти к эквивалентному уравнению и выписать его первый интеграл:

$$\begin{aligned}\frac{dy}{dx} &= \frac{\omega^2 y(x-1)}{x(1-y)}, \\ \frac{x-1}{x} dx - \frac{1-y}{\omega^2 y} dy &= 0, \\ (x - \ln x) + \frac{1}{\omega^2} (y - \ln y) &= C.\end{aligned}$$

В силу существования первого интеграла ни одна траектория не уходит в бесконечность и все они – замкнутые. Следовательно, решения системы хищник-жертва – периодические.

Обратим внимание на направление движения по фазовым траекториям – оно происходит против часовой стрелки, следовательно пик численности жертв предшествует пику численности хищников (рис. 5.2, 5.3), т.е. они колеблются в противофазе.

Полученные результаты качественно согласуются с экспериментальными данными, представленными на рисунке 5.1, но при этом можно заметить существенное ограничение модели, связанное с ответом на возможные возмущения (флуктуации) состояния системы при движении по фазовой траектории.

Особая точка типа центр устойчива по Ляпунову, но не асимптотически. Покажем на данном примере, в чем это проявляется. Пусть колебания $x(t)$ и $y(t)$ происходят таким образом, что изображающая точка движется по фазовой траектории 1 (рис. 5.4).

В момент, когда точка находится в положении M_1 , в систему добавляется извне некоторое число особей x такое, что изображающая точка переходит скачком из точки M_1 в точку M_2 . Если после этого систему предоставить самой себе, колебания $x(t), y(t)$ уже будут происходить с большими амплитудами, чем прежде, и изображающая точка будет двигаться по траектории 2. Это и означает, что колебания в системе неустойчивы: они навсегда

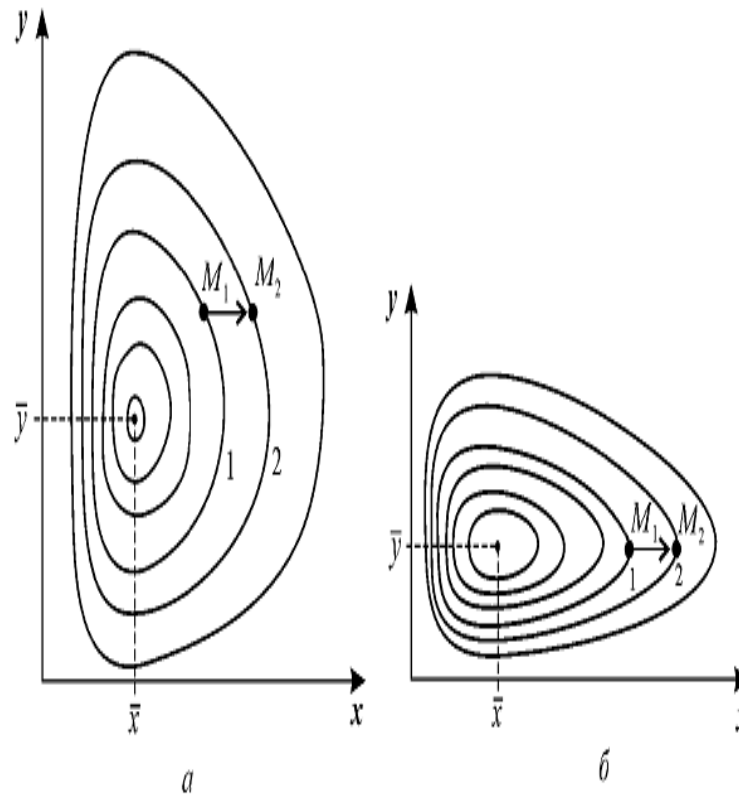


Рис. 5.4. Фазовый портрет системы. Возмущение при движении по орбите меняет параметры колебаний. Параметры системы: а) $a = 4, 7$, $b = 0,3$, $c = d = 0,4$; б) $a = 2$, $b = 0,3$, $c = d = 0,4$

изменяют свои характеристики при внешнем воздействии.

Другими словами, модель Вольтерра слишком чувствительна к изменению начальных условий, которые определяют траекторию движения (их можно также рассматривать в качестве внешних параметров системы).

5.2. Модификация классической модели Вольтерра.

Предельный цикл

Одним из недостатков классической модели Вольтерра является бесконечный экспоненциальный рост жертв в отсутствии хищников.

Рассмотрим классическую систему Вольтерра (5.3) как частный случай системы (5.2), где в уравнении для жертв $c_1 = 0$. Положим, что в модели (5.2) в отличие от модели (5.3) параметр $c_1 \neq 0$, т.е. в отсутствии хищников жертвы подчиняются логистическому уравнению Ферхюльста [6, 31] (см. раздел 2).

Тогда уравнение для жертв примет вид:

$$dx/dt = x - xy - \gamma x^2 = x(1 - y - \gamma x), \gamma > 0, \quad (5.5)$$

откуда видно, что вместо изоклины вертикальных касательных $y = 1$ появляется наклонная прямая $y = 1 - \gamma x$ (рис. 5.5).

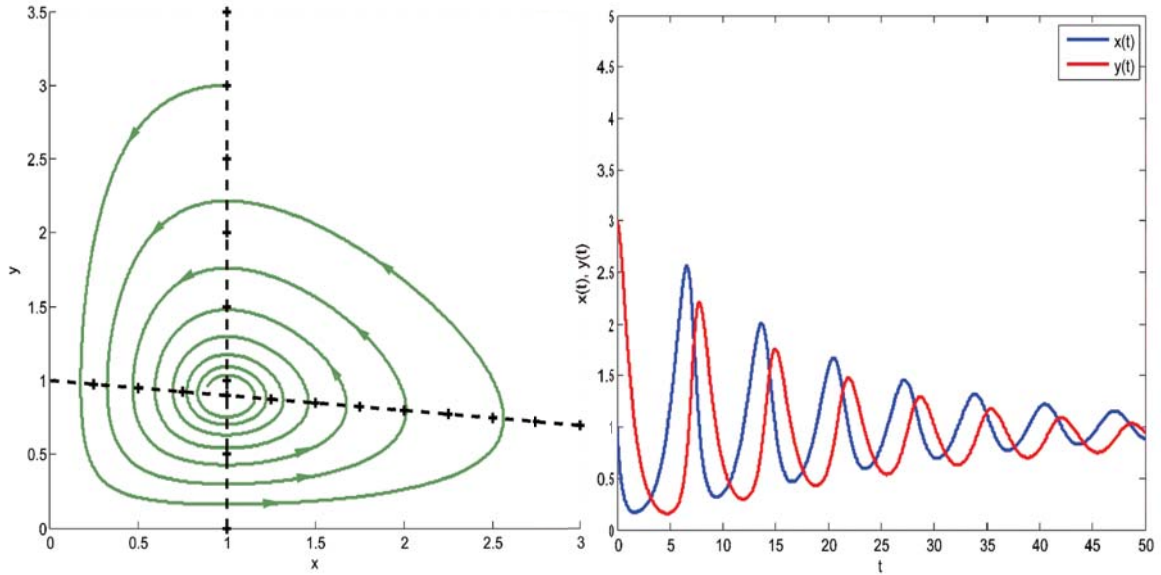


Рис. 5.5. Фазовый портрет и изменение численности видов x , y во времени модифицированной системы хищник-жертва. Устойчивый фокус

Во-первых, видно, что она дает еще одну точку покоя $(\frac{1}{\gamma}, 0)$ при пересечении с осью абсцисс – изоклиной горизонтальных касательных. Эта точка представляет собой стационарное значение для численности жертв в отсутствии хищников.

Рассмотрим поведение системы при малом значении $0 < \gamma < 1$, т.е. при малом изменении параметра $c_1 \neq 0$ по сравнению с $c_1 = 0$.

В этом случае новая точка покоя $(\frac{1}{\gamma}, 0)$ лежит правее точки пересечения главных изоклин $(1, 1 - \gamma)$, которая лежит немного ниже точки покоя $(1, 1)$ для исходной системы Вольтерра и является ее модификацией в ответ на возмущение параметра γ .

Нетрудно убедиться, что при этом тип точки покоя $(\frac{1}{\gamma}, 0)$ – седло, а точки покоя $(1, 1 - \gamma)$ – устойчивый фокус (рис. 5.5).

Таким образом, малое изменение параметра γ (и соответственно параметра c_1) по сравнению с нулем привело к качественному изменению струк-

туры решения: появилась новая, неустойчивая точка покоя, а вместе периодических колебаний вокруг точки покоя типа центр возникли затухающие колебания, стремящиеся к точке покоя – устойчивому фокусу. Другими словами, при $\gamma \neq 0$ мы достигли независимости стационарного состояния системы от начальных данных, но при этом модифицированная модель потеряла способность описывать колебания численности хищников и жертв.

Следовательно, значение параметра $\gamma = 0$ (или $c_1 = 0$ в исходной системе (5.2)) представляет собой бифуркационное значение параметра, а сама классическая система Вольтерра является структурно неустойчивой.

Нетрудно убедиться, что при относительно большом значении параметра $\gamma > 1$ точка покоя на пересечении с изоклиной горизонтальных касательных $x = 1$ пропадает, т.е. в системе остается лишь одна устойчивая точка покоя $(\frac{1}{\gamma}, 0)$ на оси абсцисс, что означает, что хищники вымирают от недостатка пищи. Этот случай соответствует существенному изменению параметра $c_1 \neq 0$ по сравнению с $c_1 = 0$ в классической модели Вольтерра, поэтому неудивительно, что картина решений сильно изменилась.

Понятно, что $\gamma = 1$ – также является бифуркационным значением параметра, в окрестности которого поведение системы качественно меняется – при переходе через него в решении либо пропадает, либо возникает еще одна точка покоя, а тип точки покоя $(\frac{1}{\gamma}, 0)$ меняется от устойчивого узла к седлу.

Представим теперь, что при $\gamma \neq 0$ главная изоклина повернулась в противоположную сторону по сравнению с горизонтальной линией $y = 1$ для исходного уравнения при $\gamma = 0$ (рис. 5.6). Например, такая картина будет при смене знака коэффициента при x^2 в уравнении (5.5) для жертв:

$$dx/dt = x - xy + \gamma x^2 = x(1 - y + \gamma x), \quad \gamma > 0.$$

Не будем обсуждать содержательный смысл такого уравнения, а просто обратим внимание, что в этом случае вместо центра при $\gamma = 0$ получится неустойчивый фокус (рис. 5.6), что еще раз подтверждает, что $\gamma = 0$ –

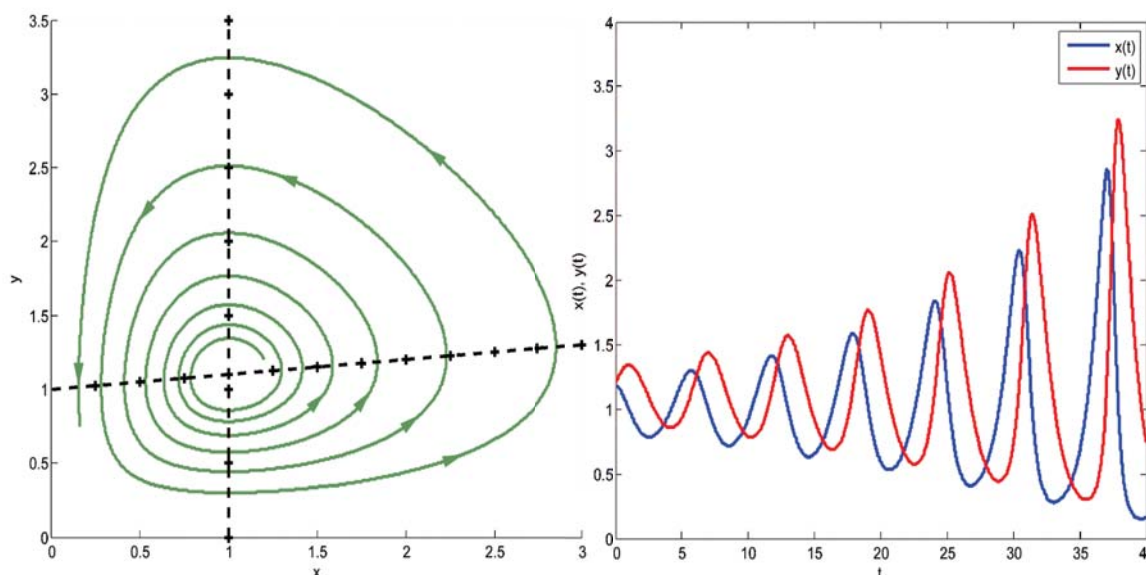


Рис. 5.6. Фазовый портрет и изменение численности видов x , y во времени модифицированной системы хищник-жертва. Неустойчивый фокус

бифуркационный параметр для системы хищник-жертва (5.2).

5.2.1. Предельный цикл

Итак, наша цель – получить устойчивые колебания численности хищников и жертв (x, y) , не зависящие от начальных условий. Такое поведение системы называется *предельный цикл*, т.е. изолированная замкнутая кривая на фазовой плоскости, соответствующая устойчивому периодическому решению системы, к которому асимптотически возвращается любое возмущенное решение (рис. 5.7).

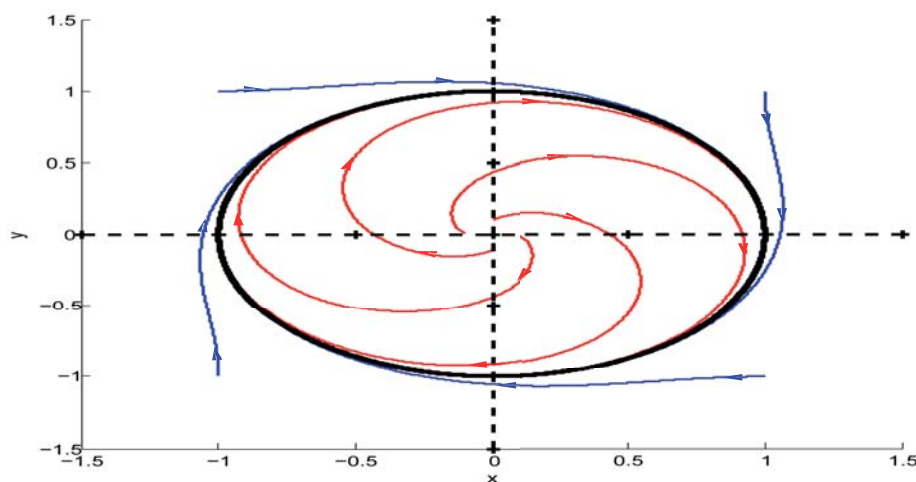


Рис. 5.7. Предельный цикл на фазовой плоскости

Заметим, что на приведенном на рисунке 5.7 примере внутри предель-

ного цикла содержится неустойчивая точка покоя, а траектории системы не уходят в бесконечность, оставаясь внутри некоторой замкнутой области. Такие требования для системы при определенных условиях являются достаточными для существования предельного цикла.

В случае существования предельного цикла периодическое изменение величин представляет собой один из типов стационарного поведения системы. Если колебания в системе имеют постоянные период и амплитуду, устанавливаются независимо от начальных условий и поддерживаются благодаря свойствам самой системы, а не вследствие воздействия периодической силы, система называется *автоколебательной*.

Незатухающие колебания в таких системах устойчивы, так как отклонения от стационарного колебательного режима затухают. К классу автоколебательных систем относятся, например, колебания в гликолизе (ферментативный процесс последовательного расщепления глюкозы в клетках, сопровождающийся синтезом АТФ) и других метаболических системах, периодические процессы фотосинтеза, авторитмические возбуждения клеток-проводителей ритма (пейсмейкеров) в сердце, устойчивые периодические колебания численности животных в популяциях и сообществах и многие другие.

Приведем пример системы, обладающей предельным циклом [13]

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= y + x(1 - (x^2 + y^2)), \\ \frac{dy}{dt} &= -x + y(1 - (x^2 + y^2)).\end{aligned}\tag{5.6}$$

Траектория $x^2 + y^2 = 1$ — является устойчивым предельным циклом (рис. 5.7).

Предельный цикл называется устойчивым, если существует такая область на фазовой плоскости, содержащая этот предельный цикл, — ε окрестность, — что все фазовые траектории, начинающиеся в ε окрестности, асимптотически приближаются к предельному циклу при $t \rightarrow \infty$.

Если же, наоборот, в любой сколь угодно малой ε окрестности предель-

ного цикла существует по крайней мере одна фазовая траектория, не приближающаяся к предельному циклу при $t \rightarrow \infty$, то такой предельный цикл называется неустойчивым. Такие циклы разделяют области влияния (бассейны) разных притягивающих множеств.

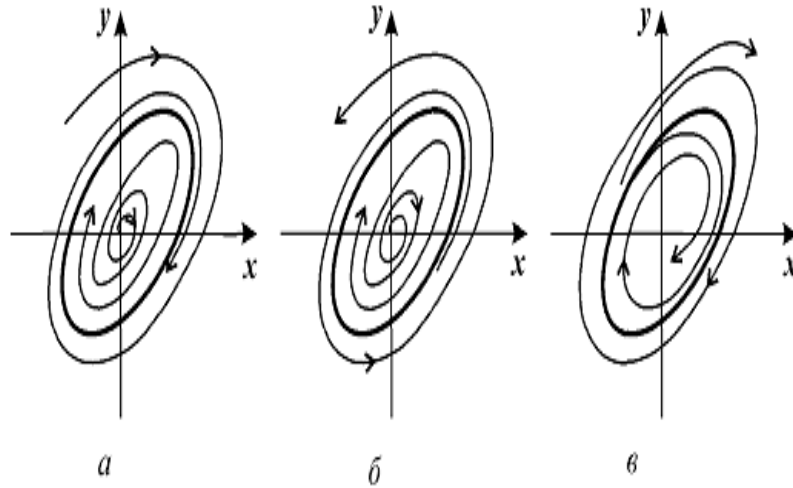


Рис. 5.8. Устойчивый (а) и неустойчивые (б и в) предельные циклы на фазовой плоскости

На рисунке 5.8 изображены устойчивый (а) и неустойчивые (б и в) предельные циклы. У неустойчивого предельного цикла, показанного на рисунке 5.8 (б), все траектории с одной стороны (например, изнутри) приближаются к нему, а с другой стороны (извне) удаляются от него при $t \rightarrow \infty$. Такой предельный цикл называется «полуустойчивыми» или двойными. Последнее название связано с тем, что обычно такие циклы при подходящем изменении параметра системы расщепляются на два, один из которых устойчив, а другой неустойчив (рис. 5.9).

Для исследования устойчивости периодического движения $x = \varphi(t)$, $y = \psi(t)$ можно использовать линеаризованную систему уравнений, подобно тому, как мы это делали при исследовании устойчивости состояний равновесия. Разложение в ряд Тейлора в окрестности периодического решения приводит к системе линейных уравнений с периодическими коэффициентами для отклонений от предельного цикла. Существуют методы, позволяющие по характеристическим показателям этой системы судить об

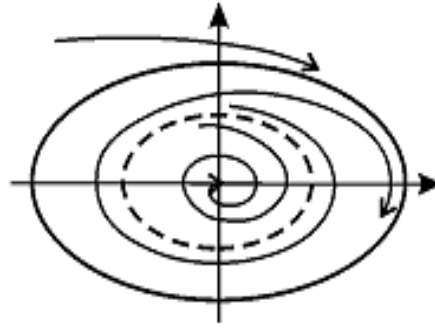


Рис. 5.9. Фазовый портрет системы, имеющей устойчивый и неустойчивый (пунктир) предельные циклы

устойчивости предельного цикла. Мы не будем останавливаться на этом анализе, а будем непосредственно по поведению фазовых траекторий судить об устойчивости предельного цикла.

Для нахождения предельных циклов также не существует простых аналитических методов, как для нахождения стационарных точек. Однако исследование фазовой плоскости системы позволяет ответить на вопрос, есть в данной системе предельный цикл или нет. Для этого имеется несколько теорем, формулирующих достаточные условия существования предельного цикла, с ними можно познакомиться в монографии [3, 7]. Мы приведем выборочно наиболее конструктивные формулировки признаков наличия или отсутствия предельного цикла, которые могут быть полезны как при аналитическом, так и при компьютерном анализе системы.

Признак наличия предельного цикла. Если существует на фазовой плоскости некоторая замкнутая область, такая, что все фазовые траектории, пересекающие границу этой области, входят в нее, и внутри этой области находится неустойчивая особая точка, то в этой области обязательно имеется хотя бы один предельный цикл (рис. 5.10).

Приведем также некоторые *критерии отсутствия замкнутых фазовых траекторий*:

1. Если в системе не существует особых точек, то в ней не может быть и замкнутых фазовых траекторий.
2. Если в системе существует только одна особая точка, отличная от уз-

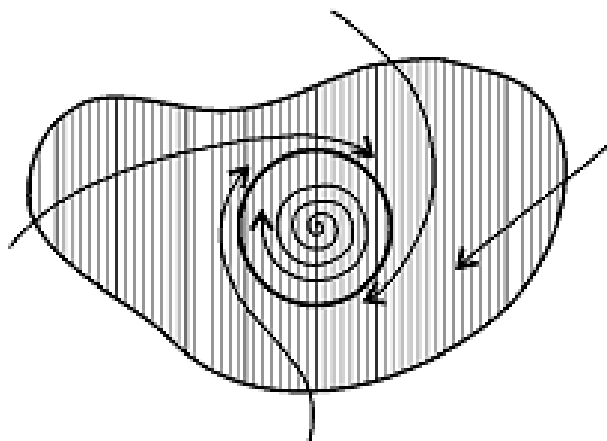


Рис. 5.10. Иллюстрация к теореме о наличии предельного цикла

ла, фокуса и центра (например, седло), то такая система не допускает замкнутых фазовых траекторий.

3. Если в системе имеются только простые особые точки (изолированные), причем через все точки типа узел и фокус проходят фазовые траектории, уходящие на бесконечность, то в такой системе нет замкнутых фазовых траекторий.

В случае, если какое-либо из условий 1-3 выполнено, можно утверждать, что в системе нет предельных циклов. Однако невыполнение этих критериев еще не позволяет сделать вывод о наличии в системе предельных циклов и, следовательно, автоколебаний.

Неустойчивый предельный цикл также может содержаться в фазовом портрете грубых систем, т.е. систем дифференциальных уравнений, у которых топологическое поведение траекторий не меняется при малых возмущениях параметров (правой части) системы. Однако такой предельный цикл не может описывать реальный периодический процесс, поскольку любое возмущение в процессе движения уводило бы систему от этого предельного цикла. Поэтому неустойчивый предельный цикл мог бы играть роль «водораздела», по разные стороны которого траектории имеют различное поведение. Например, на рисунке 5.9 неустойчивый предельный цикл пред-

ставляет собой сепаратрису, отделяющую область тяготения траекторий к устойчивой особой точке, с одной стороны, или к устойчивому предельному циклу, с другой.

5.2.2. Обобщенная модель хищник-жертва, допускающая существование предельного цикла

Вернемся к нашей модели хищник-жертва (5.3) и будем ее модифицировать так, чтобы она могла иметь предельный цикл.

Рассмотрим следующее существенное ограничение классической модели. Рассмотрим слагаемые $-xy$ и $\omega^2 xy$, описывающие в уравнениях (5.3) взаимодействие между видами. Их можно представить в обобщенном виде $r(x)y$, где $r(x)$ можно интерпретировать как константу скорости поедания хищниками жертв или воспроизводства хищников вследствие переработки жертв, т.е. количество съеденных или переработанных в потомство жертв, приходящееся на одного хищника.

В классической модели $r(x) \sim x$, т.е. $r(x)$ пропорционально растет вместе с численностью жертв x (рис. 5.11), что, конечно, невозможно при достаточно больших значениях x .

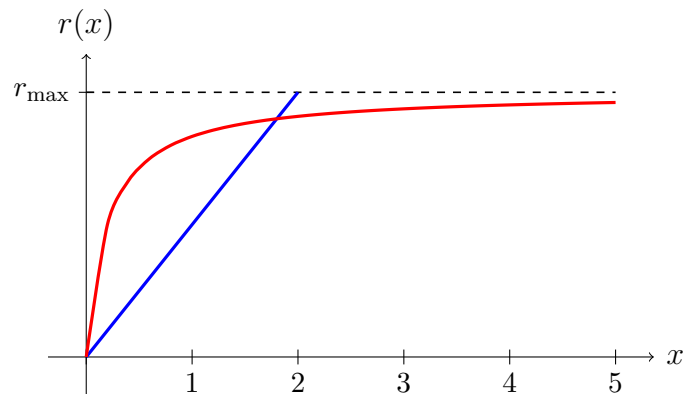


Рис. 5.11. Зависимость $r(x)$ в классической модели (синяя линия) и в обобщенной (красная линия) модели хищник-жертва

Поэтому в более реалистичной модели естественно ввести асимптоту для $r(x)$ при $x \rightarrow \infty$ (рис. 5.11, пунктирная линия). Мы много раз встречались с кривыми насыщения, описываемыми при помощи гиперболических или сигмоидальных функций (рис. 5.11).

Заменим $r(x) \sim x$ на $r(x) \sim x/(x + \kappa)$ и с учетом логистического уравнения для жертв в отсутствии хищников (см. уравнение (5.5)) получим следующую систему

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= x - \rho_1 \frac{x}{x + \kappa} y - \gamma x^2 = x(1 - \rho_1 \frac{1}{x + \kappa} y - \gamma x), \\ \frac{dy}{dt} &= \omega^2(\rho_2 \frac{x}{x + \kappa} y - y) = \omega^2(\rho_2 \frac{x}{x + \kappa} - 1)y.\end{aligned}\quad (5.7)$$

Видим, что асимптота вертикальных касательных, которая в силу уравнения (5.5) для жертв была прямой линией (либо горизонтальной прямой при $\gamma = 0$, либо наклонной прямой при $\gamma \neq 0$) стала параболой (рис. 5.12):

$$1 - \rho_1 \frac{1}{x + \kappa} y - \gamma x = 0$$

или

$$y = \frac{(x + \kappa)(1 - \gamma x)}{\rho_1}.\quad (5.8)$$

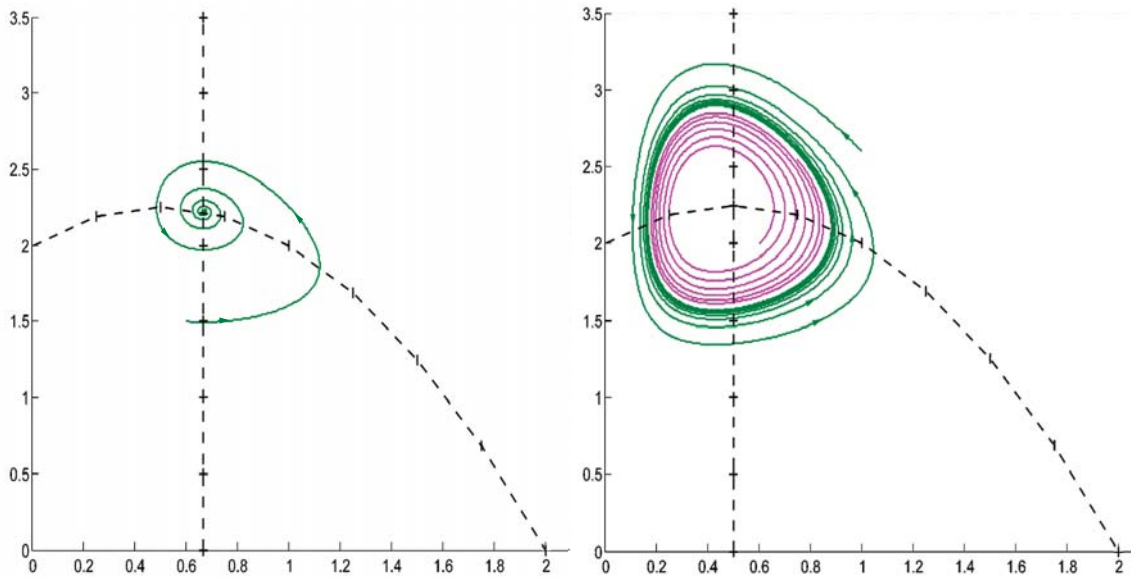


Рис. 5.12. Фазовый портрет обобщенной системы хищник-жертва

Видим, что парабола пересекает положительную ветвь оси абсцисс в точке $\bar{x} = 1/\gamma$, как и в рассмотренном выше случае для системы с уравнением (5.5) (рис. 5.12).

Изоклина горизонтальных касательных остается в виде вертикальной

прямой:

$$\rho_2 \frac{x}{x + \kappa} - 1 = 0$$

откуда

$$x = \frac{\kappa}{\rho_2 - 1}. \quad (5.9)$$

Видно, что должно выполняться условие $\rho_2 > 1$ и для существования точки пересечения параболы и прямой должно быть $\kappa/(\rho_2 - 1) < 1/\gamma$.

Тип устойчивости точки пересечения изоклин (5.8) и (5.9) определяется тем, на какой оси параболы – правой или левой будет находиться точка пересечения. Как мы видели выше при анализе влияния наклона изоклины вертикальных касательных в случае модифицированного уравнения (5.5) (рис. 5.5, 5.5), при пересечении изоклин на правой ветви параболы следует ожидать устойчивой точки покоя, а на левой – неустойчивой (рис. 5.12).

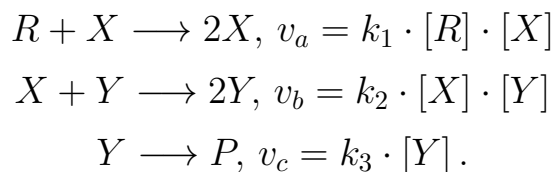
В случае неустойчивой точки покоя мы имеем в системе предельный цикл (рис. 5.12, правая панель).

Итак, мы видим что увеличение степени неоднородности системы хищник-жертва позволяет получить модель, адекватно описывающую наличие устойчивых, независящих от начальных условий колебаний численности популяций взаимодействующих видов.

Более полное изложение обобщений модели хищник-жертва можно найти в монографиях [13].

5.3. Автоколебания в биохимических реакциях

Как мы уже раньше отмечали, уравнения классической модели Вольтерра полностью совпадают с моделью некой биохимической реакции, предложенной Лоткой:



Для нее выписывается соответствующая система уравнений:

$$\begin{aligned}\frac{d[X]}{dt} &= v_a - v_b = k_1 \cdot [R] \cdot [X] - k_2 \cdot [X] \cdot [Y] \\ \frac{d[Y]}{dt} &= v_b - v_c = k_2 \cdot [X] \cdot [Y] - k_3 \cdot [Y].\end{aligned}$$

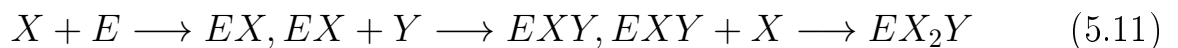
Видно, что при неизменном резервуаре R эти уравнения совпадают с системой (5.3).

Другим классическим примером автоколебательной системы химических реакций является тримолекулярная модель «брюсселятор», предложенная в Брюсселе Пригожиным и Лефевром (1965) [78].

Брюсселятор, как и гармонический осциллятор в физике, или модель Вольтерра в динамике популяций, описывает определенный тип процесса, в данном случае опирающийся на простейшую реализацию кубической нелинейности химической реакции:



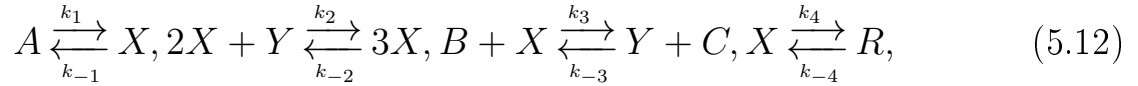
Хотя тримолекулярная стадия в химической кинетике не столь распространена, как бимолекулярные процессы, выражения для скорости ряда биохимических реакций в определенных случаях можно свести к кубическому виду. В качестве примера приведем следующую последовательность ферментативных реакций:



Здесь предполагается, что фермент имеет по крайней мере три каталитических центра, способных одновременно фиксировать две молекулы X и одну молекулу Y (вспоминаем кооперативные эффекты в ферментативной кинетике). Если образующиеся комплексы распадаются с достаточно большой скоростью, а ферменты присутствуют в небольших количествах, легко показать, что всю последовательность реакций можно свести к од-

ной стадии, дающей нелинейный член типа X_2Y в выражении для скорости реакции.

Брюсселятор представляет собой следующую схему гипотетических химических реакций:

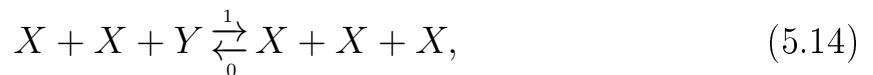


Здесь A, B – исходные вещества, C, R – продукты, X, Y – промежуточные вещества.

Пусть конечные продукты C и R немедленно удаляются из реакционного пространства. Это означает, что обратные константы $k_{-3} = k_{-4} = 0$. Если субстрат находится в избытке, $k_{-1} = 0$. Предположим также, что $k_{-2} = 0$. Значения остальных констант положим равными единице. Тогда схема реакций описывается системой уравнений:

$$\begin{aligned} \frac{dX}{dt} &= A + X^2Y - (B + 1)X \\ \frac{dY}{dt} &= BX - X^2Y \end{aligned} \quad (5.13)$$

Подробнее: вторую реакцию можно записать в виде:



$$\frac{dX}{dt} = -XXY - XXY + XXY + XXY = X^2Y \quad (5.15)$$

Найдем особые точки модели (5.13)

$$A + X^2Y - (B + 1)X = 0, BX - X^2Y = 0 \quad (5.16)$$

$$B - XY = 0 \rightarrow Y = \frac{B}{X}A + X^2\frac{B}{X} - (B + 1)X = 0 \rightarrow \quad (5.17)$$

$$A + XB - (B + 1)X = 0 \rightarrow A - X = 0 \rightarrow X = A.$$

Таким образом, модель (5.13) имеет одну особую точку с координатами:

$$\begin{aligned} X &= A \\ Y &= \frac{B}{X} \end{aligned} \quad (5.18)$$

Исследуем стационарное решение (5.18) на устойчивость по методу Ляпунова. Введем переменные, характеризующие отклонения от особой точки:

$$\xi = x - \bar{x}, \eta = y - \bar{y} \quad (5.19)$$

Линеаризация:

$$P'_x = 2XY - (B+1)X, P'_y = X^2, Q'_x = B - XY, Q'_y = -X^2 \quad (5.20)$$

$$a = P'_x(\bar{x}, \bar{y}) = 2A\frac{B}{A} - (B+1) = B-1, b = P'_y(\bar{x}, \bar{y}) = A^2 \quad (5.21)$$

$$c = Q'_x(\bar{x}, \bar{y}) = B - 2A\frac{B}{A} = -B, d = Q'_y(\bar{x}, \bar{y}) = -A^2 \quad (5.22)$$

Линеаризованная система имеет вид:

$$\frac{d\xi}{dt} = a\xi + b\eta = (B-1)\xi + A^2\eta, \frac{d\eta}{dt} = c\xi + d\eta = -B\xi - A^2\eta \quad (5.23)$$

Характеристическое уравнение $\begin{vmatrix} B-1-\lambda & A^2 \\ -B & -A^2-\lambda \end{vmatrix} = 0$ или $\lambda^2 + (A^2 + 1 - B)\lambda + A^2 = 0$ имеет корни:

$$\lambda_{1,2} = -\frac{1}{2}(A^2 + 1 - B) \pm \frac{1}{2}\sqrt{(A^2 + 1 - B)^2 - 4A^2} \quad (5.24)$$

Напомним, что особая точка является устойчивой, если действительные части корней характеристического уравнения отрицательны. Из выражения (5.24) видно, что при $B < 1 + A^2$ особая точка (5.18) устойчива. Если же $B > 1 + A^2$ особая точка становится неустойчивой, и у системы (5.13)

появляется устойчивый предельный цикл. Значение $B = 1 + A^2$ является бифуркационным. Если величина B лишь немного превосходит бифуркационный порог, автоколебания в системе носят квазигармонический характер.

Таким образом, брюсселятор при выполнении условия $B > 1 + A^2$ является автоколебательной системой. Фазовый портрет брюсселятора при разных значениях параметров изображен на рисунке 5.13.

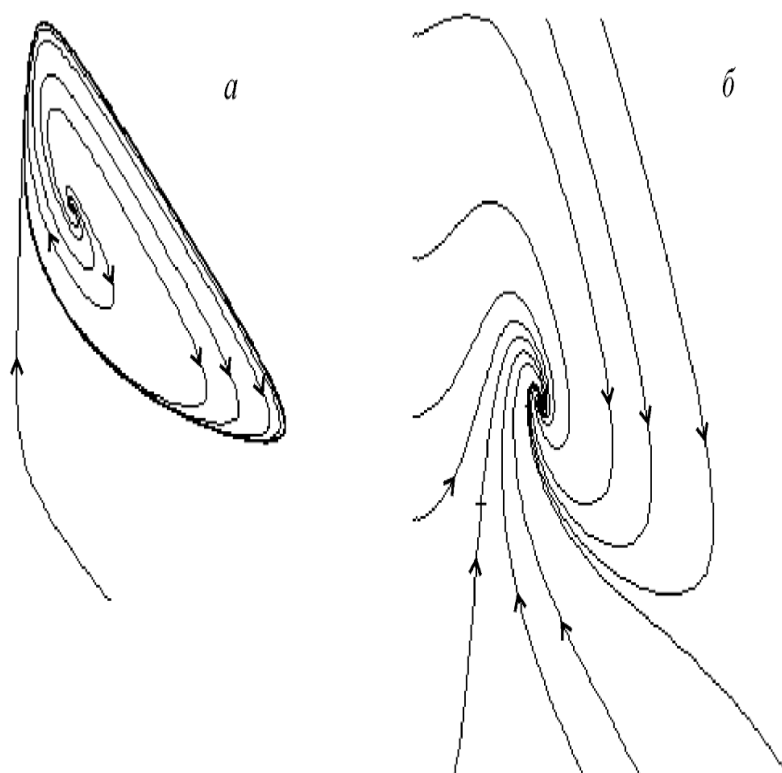


Рис. 5.13. Фазовый портрет системы брюсселятор при $B > 1 + A^2$ (а) и $B < 1 + A^2$ (б)

В 1958 г. появилось первое сообщение о чисто колебательной химической реакции. Б.П. Белоусов наблюдал периодическое изменение окраски раствора, в котором происходило окисление лимонной кислоты бромат-ионом (BrO_3) в присутствии ионов церия [8]. Реакция Белоусова-Жаботинского не только представляет собой еще один классический пример автоколебаний в химической системе (и соответствующей точечной модели), но и демонстрирует образование пространственных структур в случае распределенной системы, когда кроме реакции в ней еще имеет место диффузия веществ.

Более подробный материал по моделям автоколебаний в биохимических системах можно найти также в [18, 73].

6. МОДЕЛИ ТРАНСПОРТА ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОМЕМБРАНЫ

6.1. Диффузия

6.1.1. Клеточные мембраны

Клетка – элементарная единица строения и жизнедеятельности всех живых организмов.

Существуют разные типы клеток, например, нервные, мышечные, эндокринные, почечные и т.д. Практически все клетки обладают универсальными механизмами жизнедеятельности, но в то же время выполняют свою специфическую функцию. Клетки различаются по форме и размеру. Число клеток различно в различных тканях, наибольшее число — в нервных тканях. Некоторые клетки активно делятся, например, печеночные, почечные, а, например, сердечные и нервные – практически не делятся. Начиная с постнатального периода, происходит только увеличение размеров сердечных и нервных клеток, а их число почти не меняется.

С термодинамической точки зрения живая клетка представляет собой открытую систему. Она поглощает пищевые продукты извне, использует их для построения собственных структур и для энергообеспечения. Все живые клетки находятся вдали от термодинамического равновесия. Они могут находиться в стационарном состоянии, но не в равновесном.

Клеточная мембрана (плазматическая мембрана) отделяет содержимое клетки от внешней среды, обеспечивая ее целостность, регулирует обмен веществ между клеткой и внешней средой.

На рисунке 6.1 маленькие голубые и белые шарики соответствуют гидрофильным «головкам» липидов, а присоединенные к ним линии — гидрофобным «хвостам». На рисунке показаны только интегральные мембранные белки (красные глобулы и желтые спирали). Желтые овальные точки внутри мембраны — молекулы холестерина. Желто-зеленые цепочки бусинок на наружной стороне мембраны — цепочки олигосахаридов, формиру-

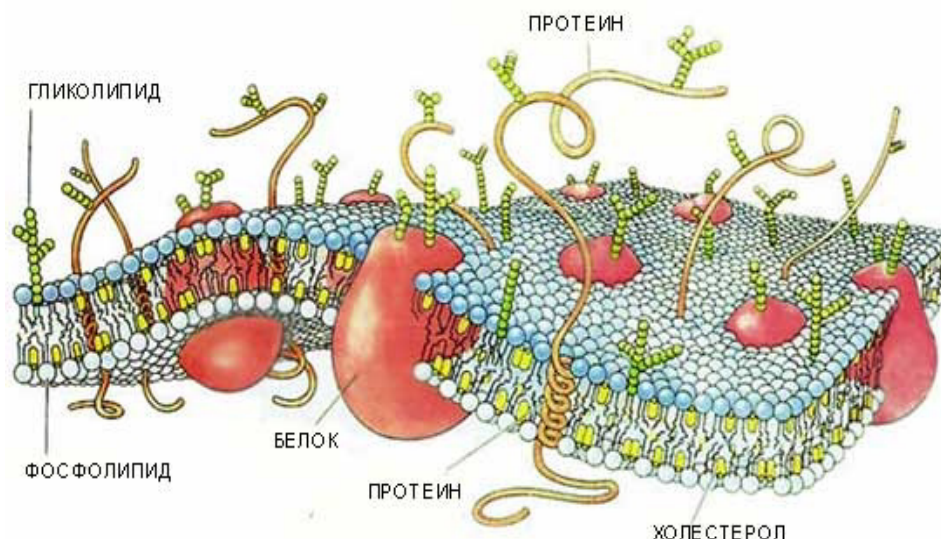


Рис. 6.1. Схема клеточной мембраны. Иллюстрация заимствована из работы Bretscher M.S. [41]

ющие гликокаликс.

Клеточная мембрана представляет собой двойной слой (бислой) молекул липидов. Молекулы липидов имеют гидрофильную (полярная заряженная фосфатная головка) и гидрофобную («хвост» – длинные углеводородные цепочки, принадлежащие жирным кислотам) часть. При образовании мембран гидрофобные участки молекул оказываются обращены внутрь, а гидрофильные – наружу. Толщина мембраны составляет 7-8 нм (не превышает 100 Ангстрем). В мембраны также встроены молекулы белков и углеводов.

Биологическая мембрана включает различные виды белков: интегральные (пронизывающие мембрану насквозь), полуинтегральные (погруженные одним концом во внешний или внутренний липидный слой), поверхностные (расположенные на внешней или прилегающие к внутренней сторонам мембраны).

Основные функции биомембран:

1. *Барьерная.* Мембрана служит барьером для свободного потока веществ в клетку и из клетки. Таким образом, мембрана обеспечивает регулируемый избирательный обмен веществ с окружающей средой. Избирательная проницаемость означает, что проницаемость мембраны

для различных атомов или молекул зависит от их размеров, электрического заряда и химических свойств, а также состояния самой мембраны. Избирательная проницаемость обеспечивает отделение клетки от окружающей среды и снабжение ее необходимыми веществами.

2. *Транспортная.* Через мембрану происходит транспорт веществ в клетку и из клетки. Транспорт через мембраны обеспечивает доставку питательных веществ, удаление конечных продуктов обмена, создание ионных градиентов, поддержание в клетке соответствующей ионной концентрации. Например, транспорт ионов осуществляется через ионные каналы, которые представляют собой макромолекулы – белковые структуры.
3. *Электрическая.* Мембрана участвует в генерации электрических потенциалов и проведении электрического сигнала от клетки к клетке. Различие количества ионов внутри и снаружи клетки создает разность потенциалов на мембране, которая может меняться специфическим образом, обеспечивая возбуждение, например нервных или сердечных клеток.

Внутриклеточная и внеклеточная среда состоят из ионизованных водных растворов солей, преимущественно $NaCl$ и KCl , которые в диссоциированном состоянии разлагаются на ионы Na^+ , K^+ и Cl^- . Концентрации этих ионов, а также других ионов, например, ионов Ca^{2+} , различны внутри и снаружи клетки (см. таблицу 6.1). Концентрации Na^+ и Ca^{2+} внутри клетки меньше, чем снаружи клетки, а концентрация K^+ больше внутри, чем снаружи клетки. Поддержание такого неравновесного соотношения концентраций требует затрат энергии, которая, в частности, расходуется на транспорт ионов против градиентов концентрации.

Таблица 6.1. Концентрации ионов внутри и снаружи клетки. Таблица заимствована из монографии Keener J., Sneyd J. [56]

Ион	Внутриклеточная концентрация (мМ)	Внеклеточная концентрация (мМ)
Гигантский аксон кальмара		
K ⁺	400	20
Na ⁺	50	440
Cl ⁻	40	560
Нейрон млекопитающих		
K ⁺	135	3
Na ⁺	18	145
Cl ⁻	7	120
Портняжная мышца лягушки		
K ⁺	138	2.5
Na ⁺	13	110
Cl ⁻	3	90
Эритроцит человека		
K ⁺	136	5
Na ⁺	19	155
Cl ⁻	78	112
Кардиомиоцит		
K ⁺	160	4.5
Na ⁺	15	145
Cl ⁻	5	100
Ca ²⁺	0.1*10 ⁻³	1.8

6.1.2. Вывод уравнения диффузии

Остановимся подробнее на *транспортной функции мембран*. Транспорт веществ через мембрану разделяется на *пассивный* и *активный* (см. далее в этом разделе).

Пассивный транспорт предполагает движение частиц (молекул, ионов) из области с более высокой концентрацией в область с более низкой концентрацией («спуск с горы»), поэтому он не требует дополнительных затрат энергии. К пассивному транспорту относятся следующие виды транспорта веществ.

1. *Диффузия*. Свободное перемещение частиц вещества в силу Броуновского движения по градиенту концентрации.
2. *Облегченная диффузия*. Диффузия в свободной и связанной с молекулами переносчика форме.
3. *Переносчиком-опосредованный транспорт* (*carrier-mediated transport*). Перенос вещества через мембрану в результате взаимодействия транспортируемого вещества с переносчиком и конформации комплекса.
4. *Осмоз*. Диффузия растворителя через полупроницаемые мембраны из области с меньшей концентрацией раствора в область с большей концентрацией.

Активный транспорт переносит вещества из области низкой концентрации в область высокой концентрации («подъем в гору»), такой транспорт требует затрат энергии.

Рассмотрим основной вид пассивного транспорта вещества без затрат энергии – *диффузию* – перенос частиц разной природы, обусловленный хаотическим тепловым движением молекул (атомов).

В соответствии с законом сохранения вещества имеем следующее правило:

Скорость изменения количества вещества = транспортный приход – расход + локальная продукция в единицу времени.

6.1.3. Одномерная диффузия

Рассмотрим одномерный случай, когда перенос вещества происходит вдоль некоторой оси, с которой сопряжена пространственная координата x . Вначале будем предполагать, что внутренние источники вещества отсутствуют (продукция равна нулю), так что изменение количества вещества происходит только за счет диффузии.

Пусть $u(x, t)$ – концентрация вещества U , меняющаяся во времени t и пространстве x .

Рассмотрим тонкую длинную трубку (поперечное сечение трубки – S), в которой частицы вещества могут свободно двигаться (6.2).

Вычислим скорость v изменения количества вещества U в элементарной области $R = dx * S$, где dx – малый элемент длины трубки. Она равна разности притока и оттока U в/из R .

Пусть $J(x, t)$ – *поток вещества, т.е. количество вещества, проходящее в единицу времени через единицу площади поверхности в точке x в момент времени t* (рис. (6.2)).

Количество U в R равно:

$$U = \int_{x_a}^{x_b} u(x, t) S dx.$$

Приток – отток U через границу R в единицу времени в предположении, что концентрация вещества u уменьшается слева направо с ростом x , а положительным считается поток из области с большей в область с меньшей концентрацией, будет равен:

$$(J(x_a, t) - J(x_b, t))S.$$

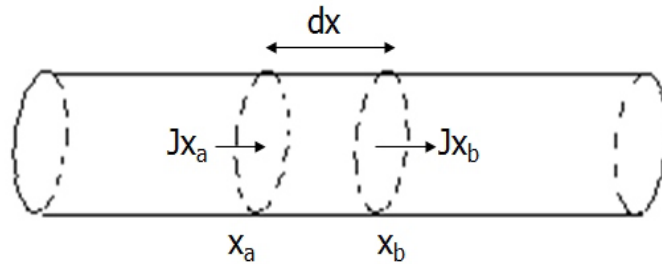


Рис. 6.2. Тонкая длинная трубка поперечного сечения S , в которой свободно двигаются частицы вещества U концентрации u

Тогда скорость изменения количества вещества в элементарном объеме будет равна:

$$\frac{d}{dt} \int_{x_a}^{x_b} u(x, t) S dx = (J(x_a, t) - J(x_b, t))S,$$

так что, сократив на S , получим:

$$\frac{d}{dt} \int_{x_a}^{x_b} u(x, t) dx = (J(x_a, t) - J(x_b, t)).$$

Далее, заметим, что по формуле Ньютона-Лейбница справедливо равенство:

$$J(x_a, t) - J(x_b, t) = - \int_{x_a}^{x_b} \frac{\partial}{\partial x} J(x, t) dx,$$

и соответственно:

$$\frac{d}{dt} \int_{x_a}^{x_b} u(x, t) dx = - \int_{x_a}^{x_b} \frac{\partial}{\partial x} J(x, t) dx.$$

Далее, выпишем равенство соответствующих интегралов:

$$\int_{x_a}^{x_b} \frac{\partial}{\partial t} u(x, t) dx = - \int_{x_a}^{x_b} \frac{\partial}{\partial x} J(x, t) dx,$$

и, перейдя от равенства интегралов к равенству подынтегральных выражений, получим закон связи скорости изменения концентрации вещества и диффузионного потока в точке x :

$$\frac{\partial u(x, t)}{\partial t} = - \frac{\partial}{\partial x} J(x, t). \quad (6.1)$$

Далее, используем закон Фика, согласно которому *поток вещества пропорционален градиенту концентрации*:

$$J(x, t) = -D \frac{\partial u(x, t)}{\partial x}. \quad (6.2)$$

Знак «-» означает, что вещество движется из области с более высокой концентрацией в область с более низкой концентрацией, т.е. поток имеет обратный знак градиента концентрации.

О законе Фика и коэффициенте диффузии. Заметим, что закон Фика не является таким основополагающим (*constitutive*) законом, как закон сохранения вещества, а представляет собой один из феноменологических законов, типа рассмотренного нами ранее закона действующих масс.

Понять его суть можно, рассмотрев следующее приближение. Рассмотрим диффузию через тонкий фрагмент стержня длиной ε , окружающий сечение стержня в точке x , т.е. интервал $(x - \varepsilon/2, x + \varepsilon/2)$ (рис. 6.3).

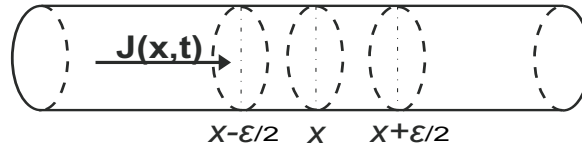


Рис. 6.3. Диффузия через тонкий фрагмент стержня длиной ε , окружающий сечение стержня в точке x , т.е. интервал $(x - \varepsilon/2, x + \varepsilon/2)$

Количество молекул вещества, пересекающих границу этого интервала слева можно считать пропорциональным концентрации $u(x - \varepsilon/2)$, а количество молекул вещества, выскакивающих за пределы рассматриваемого интервала, пропорционально концентрации на правом конце $u(x + \varepsilon/2)$, при этом вероятность проскочить сечение x обратно пропорционально расстоянию до него, т.е. длине интервала ε .

Таким образом, можно записать, что поток через сечение стержня в точке x пропорционален следующей дроби:

$$J(x, t) \propto \frac{u(x - \varepsilon/2) - u(x + \varepsilon/2)}{\varepsilon},$$

откуда, переходя к пределу при $\varepsilon \rightarrow 0$, получим:

$$J(x, t) \propto -\frac{\partial u(x, t)}{\partial x},$$

а коэффициентом пропорциональности является коэффициент диффузии D в формуле Фика (6.2).

Рассмотрим размерность коэффициента диффузии D .

Поток имеет размерность количество/площадь/время, т.е. $[J] = \frac{\text{mole}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}}$.

Градиент концентрации имеет размерность количество/объем/длина:
 $[u'_x] = \frac{\text{mole}}{\text{cm}^3 \cdot \text{cm}}.$

Следовательно, коэффициент диффузии имеет размерность: $[D] = \frac{cm^2}{s}$.

Коэффициент диффузии представляет собой количество вещества (в массовых единицах), проходящего в единицу времени (1s) через участок единичной площади (например, $1cm^2$) при градиенте концентрации, равном единице (соответствующем изменению $1mole/l$ на $1cm$ длины). Коэффициент диффузии определяется свойствами среды и типом диффундирующих частиц (см. таблицу 6.2).

Таблица 6.2. Связь коэффициента диффузии D и размера частиц. Таблица заимствована из книги Keener J., Sneyd J. [56]

Субстрат	Молекулярный вес	D ($10^{-7}cm^2/s$)
Кислород	32	120
Глюкоза	192	660
Инсулин	5 374	210
Миоглобин	16 900	11.3 (4.4)
Гемоглобин	64 500	6.9

Эйнштейн (1906 г.) показал, что в растворе для сферических молекул, больших по сравнению с молекулами растворителя, коэффициент диффузии определяется формулой:

$$D = \frac{kT}{6\pi\mu r},$$

где k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура раствора, μ – коэффициент вязкости раствора, r – радиус молекулы.

Таким образом, чем больше размер частиц, тем медленнее они диффундируют (см. таблицу 6.2).

Вернемся к выводу уравнения диффузии. Подставим формулу Фика (6.2) в формулу (6.1) для скорости изменения концентрации $u(x, t)$:

$$\frac{\partial u(x, t)}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} J(x, t) = -\frac{\partial}{\partial x} \left(-D \frac{\partial u(x, t)}{\partial x} \right).$$

Отсюда получим *уравнение диффузии в одномерном случае*

$$\frac{\partial u(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial x^2}. \quad (6.3)$$

Если в области имеются источники или стоки вещества, обусловленные протеканием какой-либо реакции, то в уравнении диффузии (6.3) добавится реакционный член $f(x, t)$, задающий интенсивность этих источников, т.е. продукцию вещества в единицу времени. Уравнение диффузии становится *реакционно-диффузионным уравнением* или *уравнением реакции-диффузии* (*reaction-diffusion equation*)

$$\frac{\partial u(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial x^2} + f(x, t). \quad (6.4)$$

Как правило, интенсивность источников не зависит явно от времени, а зависит только от пространственной координаты, т.е. является функцией плотности источников $f = f(x)$. В биологических системах, где функция f описывает скорость некой реакции с участием рассматриваемого вещества, например, биохимической реакции, скорость реакции зависит от концентрации реагентов, т.е. в скалярном случае, от самой величины u : $f = f(u)$. В этом случае линейная задача диффузии становится нелинейной задачей реакции-диффузии.

Полученное уравнение диффузии (реакции-диффузии) является уравнением в частных производных параболического типа. Его еще называют уравнением теплопроводности, т.к. оно описывает распределение температуры в стержне. Далее мы увидим, что аналогичное уравнение используется для описания проведения возбуждения в ряде возбудимых тканей, в частности, в нервном волокне или сердечной мышце.

Чтобы окончательно поставить задачу определения $u(x, t)$, требуется задать начальные и граничные условия задачи.

Например, начальное распределение концентрации вещества может быть равномерным, т.е. $u(x, 0) = \text{const}$ или задаваться известной функ-

цией

$$u(x, 0) = \phi(x).$$

Граничные условия определяют способ обмена веществом на границе области, в одномерном случае – на концах нашей узкой трубочки.

Например, концентрация вещества на границе может поддерживаться заданной, в частности, постоянной. Такое граничное условие называется условием 1-го рода:

$$u(0, t) = \alpha, u(L, t) = \beta.$$

Граничное условие 2-го рода задает поток вещества через границу:

$$u'_x(0, t) = \alpha, u'_x(L, t) = \beta.$$

В частности, при нулевых граничных условиях 2-го рода моделируется случай изолированных концов (поток вещества отсутствует).

Вместо постоянных значений концентрации (условия 1-го рода) или потока (условия 2-го рода) на границе, также могут быть заданы функции, зависящие от времени.

Наконец, можно рассмотреть граничные условия 3-го рода, смешанного типа, когда на границе происходит обмен веществом с внешней средой по закону Ньютона, т.е. пропорционально разности концентраций во внешней среде и на границе, например, вида:

$$\alpha \cdot u'_x(0, t) + \beta \cdot u(0, t) = 0.$$

Решение уравнения диффузии с заданными начально-граничными условиями в некоторых случаях, например, для линейной однородной задачи ($f = 0$) можно выписать аналитически, но в общем случае, особенно в присутствии реакционного слагаемого решение находят при помощи численных методов.

6.1.4. Диффузия в 3-х мерном пространстве

В 3-х мерном случае формализуем тот же самый закон сохранения вещества при помощи соответствующих объемных интегралов:

$$\frac{d}{dt} \int_{\Omega} u dV = \int_{\Omega} f dV - \int_{\partial\Omega} (J \cdot n) dA, \quad (6.5)$$

где $u(t, X) = u(t, x, y, z)$ – концентрация вещества в замкнутой области Ω , $\partial\Omega$ – граница области Ω , n – единичный вектор внешней нормали к границе Ω , $f(X) = f(x, y, z)$ – функция, задающая интенсивность источников вещества в единице объема в ходе реакции, и $J = \{J_x(x, y, z), J_y(x, y, z), J_z(x, y, z)\}$ – векторный поток u через границу $\partial\Omega$, dV , dA – бесконечно малые элементы объема и площади границы, через которую направлен поток J , соответственно.

Таким образом, в формуле (6.5) слева записана скорость изменения количества вещества в объеме Ω , которая равна разности количества вещества, продуцируемого источниками, и количества вещества, переносимого через границу области $\partial\Omega$, в единицу времени. Знак минус для потока вещества через границу $\partial\Omega$ предполагает перенос вещества через границу изнутри области наружу в направлении вектора нормали n к внешней границе области $\partial\Omega$ (однако поток при этом может иметь противоположный знак, так что фактически диффузия происходит извне внутрь области).

Согласно теореме Остроградского [19]

$$\int_{\partial\Omega} (J \cdot n) dA = \int_{\Omega} (\nabla \cdot J) dV,$$

здесь $\nabla \cdot J = \text{div } J$ – дивергенция потока J , – есть скалярное произведение оператора Гамильтона (“набла”-оператора) $\nabla = \left\{ \frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z} \right\}$ и вектора J :

$$\nabla \cdot J = \frac{\partial J_x}{\partial x} + \frac{\partial J_y}{\partial y} + \frac{\partial J_z}{\partial z}.$$

Переходя от равенства интегралов к равенству подынтегральных выра-

жений, получим:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = f - \nabla \cdot J. \quad (6.6)$$

Далее, аналогично одномерному случаю по закону Фика имеем:

$$J = -D\nabla u, \quad (6.7)$$

где D – коэффициент диффузии, в общем случае – (3×3) квадратная матрица, ∇u для скалярной функции u дает векторную функцию – градиент u :

$$\nabla u = \text{grad } u = \left\{ \frac{\partial u}{\partial x}, \frac{\partial u}{\partial y}, \frac{\partial u}{\partial z} \right\}.$$

Подставив (6.1) в (6.6) получим следующее уравнение диффузии:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot (D\nabla u) + f. \quad (6.8)$$

Если $D = \text{const}$, то

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D\nabla(\nabla u) + f = D\Delta u + f, \quad (6.9)$$

где $\Delta = \text{div grad}$ – оператор Лапласа:

$$\Delta u = \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial z^2}.$$

Аналогично одномерной задаче для определения u требуется задать начальные условия $u|_{t=0}$ и граничные условия: $u|_{X \in \partial\Omega}$, $(\text{grad } u \cdot n)|_{X \in \partial\Omega}$, или смешанного типа, постоянные или в виде соответствующих заданных функций.

6.1.5. Диффузия через мембрану. Стационарный случай – химический аналог закона Ома

Пусть через мембрану толщиной L переносится вещество, – концентрация вещества. Пусть перенос происходит преимущественно в одном направлении, поэтому будем рассматривать случай одномерной диффузии вдоль координаты x . По одну сторону мембраны ($x = 0$), назовем ее внешней

(*outer*) стороной, поддерживается концентрация c_o , а по другую сторону ($x = L$), назовем ее внутренней (*inner*) стороной мембраны, – концентрация c_i .

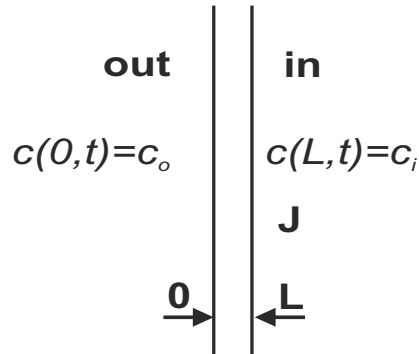


Рис. 6.4. Перенос вещества через мембрану толщиной L

Используя (6.2), запишем:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}.$$

Граничные условия:

$$c(0, t) = c_o, c(L, t) = c_i.$$

В стационарных условиях c не меняется во времени, следовательно $\frac{\partial c}{\partial t} = 0$.

Тогда в силу уравнения диффузии $-\frac{\partial J}{\partial x} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} = 0$.

Отсюда $J = -D \frac{\partial c}{\partial x} = const$, и

$$c(x) = ax + b.$$

Подставляя граничные условия, найдем a и b :

$$c_o = c(0) = a \cdot 0 + b, c_i = c(L) = a \cdot L + b.$$

Отсюда получим:

$$a = -\frac{c_o - c_i}{L}, b = c_o.$$

Тогда линейное распределение $c(x)$ в стационарных условиях имеет вид:

$$c(x) = c_o - \frac{c_o - c_i}{L} \cdot x,$$

т.е. $c(x)$ линейно убывает от внешней к внутренней границе мембраны.

Соответственно, поток J имеет следующий вид [56]:

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} = \frac{D}{L} (c_o - c_i), \quad (6.10)$$

т.е. стационарный поток вещества через мембрану пропорционален разности концентраций вещества на границе и обратно пропорционален характерному расстоянию диффузии, в данном случае – толщине мембраны.

Достаточно часто формулу (6.10) для стационарного потока используют при моделировании нестационарных процессов, когда концентрации вещества по обе стороны мембраны меняются во времени. При этом полагают, что характеристическое время диффузии существенно меньше, чем характеристические времена изменения концентраций на границах. Таким образом, уравнение (6.10) является псевдостационарным приближением, позволяющим избежать использования уравнения в частных производных и остаться в рамках ОДУ, если для изменения c_o и c_i можно использовать точечные модели.

Для того, чтобы оценить характерное время диффузии решим следующую простую задачу.

6.1.6. Характерное время диффузии

Определим время T , за которое станут равными концентрации вещества внутри и снаружи длинной тонкой трубки поперечного сечения S , длины l и объема V (рис. 6.5). Будем предполагать, что снаружи трубки концентрация равна нулю, т.е. рассмотрим граничные условия:

$$c(0, t) = 0, c(L, t) = 0.$$

В начальный момент времени будем предполагать равномерное распре-

деление концентрации в трубке, т.е.

$$c(x, 0) = c_0.$$

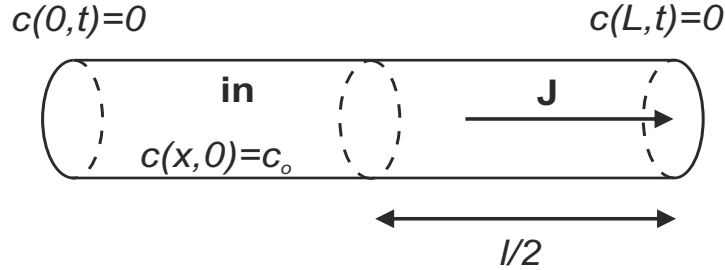


Рис. 6.5. Тонкая длинная труба поперечного сечения S , в которой свободно двигаются частицы вещества концентрации u

Рассмотрим половину трубки, предполагая, что диффузия одинаково выводит вещество из трубки в противоположных направлениях от центра. Вычислим количество вещества C_0 , которое должно диффундировать во внешнюю среду за искомое время T , когда концентрация вещества в трубке также станет равна нулю:

$$C_0 = c_0 \frac{V}{2} = c_0 \frac{l \cdot S}{2}$$

Рассмотрим псевдостационарный поток, соответствующий начальной концентрации c_0 :

$$J = \frac{D}{l/2}(c_0 - 0)$$

и будем полагать, что этот поток будет сохраняться весь промежуток времени T , пока все вещество C_0 не выведется во внешнюю среду.

Тогда:

$$c_0 \frac{l \cdot S}{2} = J \cdot S \cdot T = \frac{D}{l/2} c_0 \cdot S \cdot T,$$

откуда найдем T :

$$T = \left(\frac{l}{2}\right)^2 \frac{1}{D}.$$

Таким образом, характерное время диффузии пропорционально квадрату расстояния и обратно пропорционально коэффициенту диффузии. Эта,

вообще говоря, нестрогая формула позволяет оценить, возможно ли в том или ином случае пренебречь нестационарной диффузией и использовать формулы для стационарного потока в моделях транспорта вещества.

6.2. Пассивный и активный транспорт

6.2.1. Пассивный транспорт. Облегченная диффузия

Термин облегченная диффузия (ОД) используется в различных ситуациях. Часто под ОД понимают диффузию вещества через мембрану, облегченную молекулами-переносчиками, встроенными в мембрану, но обладающими подвижностью в ее пределах.

Другим примером ОД может быть транспорт ионов в клетках, содержащих лиганды, связывающие эти ионы и способные диффундировать в клетке. Например, рассмотрим ОД кислорода в миоцитах.

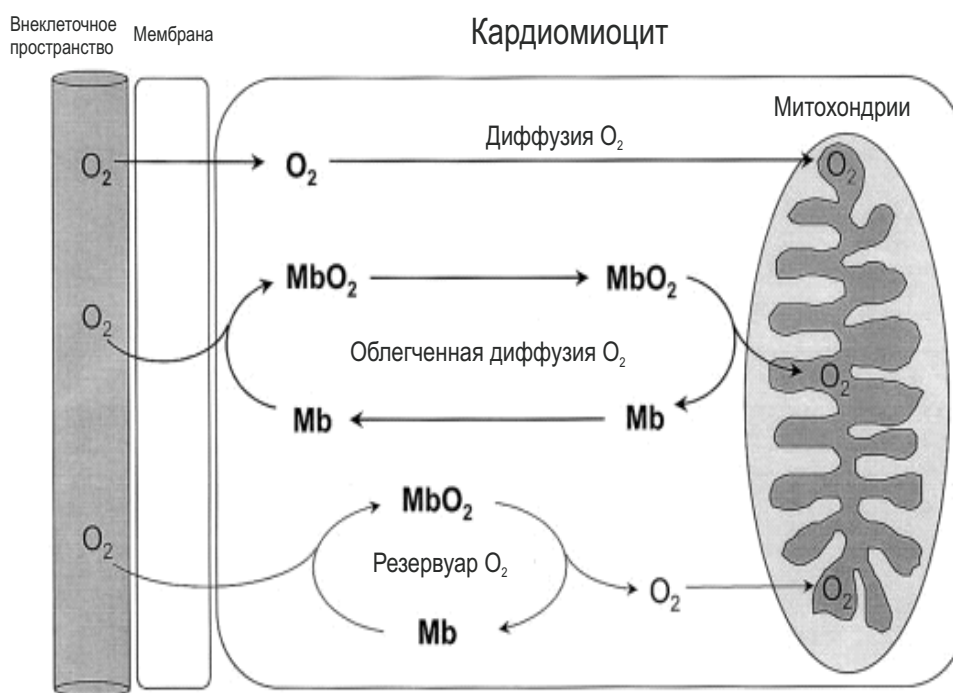


Рис. 6.6. Облегченная диффузия кислорода в кардиомиоцитах

Кислород поступает в клетку через мембрану, а затем диффундирует во внутриклеточном пространстве в сторону митохондрий (основное энергетическое «депо» клетки, где происходит синтез АТФ, для чего необходим

постоянный приток кислорода). Т.к. мышечные клетки постоянно совершают механическую работу, то расход энергии (т.е. в данном случае гидролиз АТФ в клетке) очень велик, и для пополнения «энергоресурсов» приток кислорода к митохондриям должен достаточно интенсивным.

В миоцитах кислород, поступивший в клетку извне, связывается с молекулами миоглобина и переносится к митохондриям частично в связанном виде, т.е. как оксимиоглобин. Формирование оксимиоглобина – кинетический процесс: комплексы образуются и распадаются в каждой точке среды, в частности около митохондрий. Поэтому миоглобин является переносчиком кислорода от мембраны к митохондриям в клетке. Кроме того, часть кислорода диффундирует в том же направлении в свободном состоянии. Оказывается, что перенос части кислорода миоглобином способствует тому, что суммарный поток кислорода к митохондриям становится более интенсивным по сравнению с раствором, в котором нет миоглобина. Этот факт подтвержден экспериментально.

Молекула миоглобина намного больше молекулы кислорода. Молекулярный вес первой: 16890 а.е.м (дальтон), а второй – всего 32 а.е.м. (дальтон). Соответственно коэффициент диффузии миоглобина намного меньше: $4.4 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ против $1.2 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$ для кислорода. Т.е. диффузия оксимиоглобина гораздо медленнее, чем чистого кислорода. Поэтому возникает естественный вопрос: почему суммарный поток эффективнее? Для ответа на этот вопрос рассмотрим упрощенную модель процесса.

Рассмотрим прямоугольный реактор, содержащий диффундирующий миоглобин (рис. 6.7). Пусть на левой границе реактора ($x = 0$) поддерживается постоянная концентрация кислорода $[O_2]_o = s_o$, равная внеклеточной концентрации кислорода. На правой границе ($x = L$), т.е. внутри клетки, поддерживается постоянная концентрация кислорода $[O_2]_i = s_i$, которая меньше, чем s_o . Это соотношение оправдано тем обстоятельством, что моделируется ситуация постоянной секвестрации кислорода митохондриями на правой границе ректора.

Итак, имеют место следующие процессы:

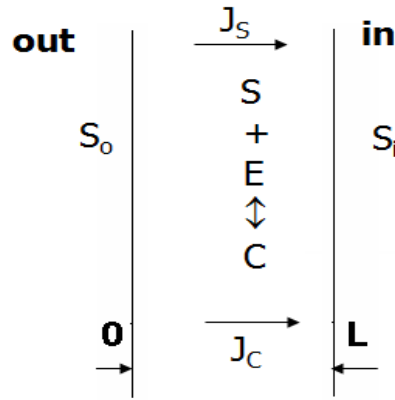
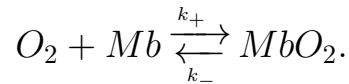


Рис. 6.7. Прямоугольный реактор, содержащий диффундирующий миоглобин

1. диффузия свободного кислорода;
2. диффузия миоглобина;
3. связывание и распад оксимиоглобиновых комплексов;
4. диффузия оксимиоглобина.

Введем следующие обозначения концентраций веществ: $s = [O_2]$, $e = [Mb]$, $c = [MbO_2]$. Пусть f – скорость реакции образования оксимиоглобина:



В соответствии с законом действующих масс имеем:

$$f = k_+se - k_-c.$$

Выпишем сопряженные уравнения реакции и диффузии:

$$\begin{aligned} \frac{\partial s}{\partial t} &= D_s \frac{\partial^2 s}{\partial x^2} - f, \\ \frac{\partial e}{\partial t} &= D_e \frac{\partial^2 e}{\partial x^2} - f, \\ \frac{\partial c}{\partial t} &= D_c \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + f. \end{aligned}$$

Т.к. миоглобин и оксимиоглобин имеют практически идентичный молекулярный вес и структуру, то их коэффициенты диффузии равны: $D_e = D_c$. Далее, полагаем, что поскольку миоглобин и в свободной, и в связанной

с кислородом форме остается внутри реактора, то его поток через границы равен нулю, т.е. $e'_x|_{x=0,L} = c'_x|_{x=0,L} = 0$.

Далее, по закону сохранения общее количество миоглобина с реакторе не меняется, так что суммарная концентрация миоглобина и оксимиоглобина равна начальной концентрации e_0 : т.е. справедливо тождество $e + c = e_0$ и по t , и по x . Это обстоятельство делает одно из уравнений системы, например, уравнение для e – избыточным.

В стационарных условиях $s_t = 0$ и $c_t = 0$, так что:

$$0 = s_t + c_t = D_s s_{xx} + D_c c_{xx}.$$

J – суммарный поток свободного кислорода и оксимиоглобина, в стационарных условиях он постоянен, и, так же как было получено в случае простой диффузии, равен:

$$J = \frac{D_s}{L}(s_o - s_i) + \frac{D_c}{L}(c_o - c_i). \quad (6.11)$$

Заметим, что в отличие от заданных граничных значений s_o и s_i для кислорода нам пока не известны входящие в выражение (6.11) значения концентрации оксимиоглобина c_o и c_i на границах реактора.

Введем безразмерные переменные и параметры: $K = \frac{k_-}{k_+}$, $\sigma = \frac{s}{K}$, $u = \frac{c}{e_o}$, $y = x/L$,

$$\epsilon_1 = \frac{D_s}{e_o k_+ L^2}, \quad \epsilon_2 = \frac{D_c}{k_- L^2}.$$

В этих переменных уравнения приобретают вид:

$$\epsilon_1 \sigma_{yy} = \sigma(1 - u) - u = -\epsilon_2 u_{yy}. \quad (6.12)$$

Данный переход полезен потому, что все входящие в уравнение (6.12) коэффициенты возможно оценить в реальном натурном эксперименте, что и было сделано Виттенбергом (*Wittenberg, J. B.*) в 1966 году. Он провел реальный эксперимент, соответствующий модели, т.е. построил прямоугольный реактор, помещенный в физраствор, насыщенный кислородом. Стенки

реактора проницаемы для O_2 , но не для миоглобина. Внешний резервуар с раствором разделен на две непроницаемые для O_2 части так, что справа и слева от реактора могут поддерживаться различные постоянные концентрации O_2 (слева больше, чем справа). Затем концентрации O_2 свободного и связанного с миоглобином измерялись в различных участках реактора в двух случаях: 1) в отсутствии миоглобина в реакторе; 2) при загрузке миоглобина в реактор. Именно в этом эксперименте было установлено, что во втором случае суммарный перенос кислорода слева направо больше, чем в первом. Для объяснения этого факта в той же работе Виттенберг предложил описанную выше модель.

Для использованных значений коэффициентов модели: $k_+ = 1.4 \cdot 10^{10} \text{ см}^3 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$, $k_- = 11 \text{ с}^{-1}$, $L = 0.022 \text{ см}$, $e_o = 1.2 \cdot 10^{-5} \text{ М/см}^3$ величины $\epsilon_1 = 1.5 \cdot 10^{-7}$, $\epsilon_2 = 8.2 \cdot 10^{-5}$ оказались близки к нулю.

Поэтому можно использовать псевдостационарные приближения и положить ϵ_1 и ϵ_2 равными нулю. Тогда получим:

$$\sigma(1 - u) - u = 0,$$

что означает, что реакция образования оксимиоглобина происходит достаточно быстро, и можно считать, что u , т.е. концентрация оксимиоглобина c , практически мгновенно выходит на стационарный уровень, соответствующий концентрации субстрата σ , т.е. концентрации кислорода s , так что допустимо пользоваться псевдостационарным приближением:

$$c = e_o \frac{s}{K + s}, \quad (6.13)$$

где e_o – суммарная концентрация миоглобина в свободном и связанном с кислородом виде в реакторе.

Выражение (6.13) позволяет выразить c_o через s_o и c_i через s_i в соотношении (6.11).

В результате имеем:

$$\begin{aligned} J &= \frac{D_s}{L}(s_o - s_i) + \frac{D_c}{L}e_0\left(\frac{s_o}{K + s_o} - \frac{s_i}{K + s_i}\right) = \\ &= \frac{D_s}{L}(s_o - s_i)\left(1 + \frac{D_c}{D_s}\frac{e_0K}{(s_o + K)(s_i + K)}\right) = \frac{D_s}{L}(1 + \mu\rho)(s_o - s_i), \quad (6.14) \end{aligned}$$

где $\rho = \frac{D_c e_0}{D_s K}$, $\mu = \frac{K^2}{(s_o + K)(s_i + K)}$.

Формула (6.14) показывает, что поток ОД больше потока свободного кислорода, так как по сравнению с потоком свободного кислорода содержит множитель $1 + \mu\rho > 1$.

Чем больше в клетке миоглобина, тем больше ρ , в то время как в отсутствии миоглобина $\rho = 0$. В частности, при указанных выше значениях параметров $\rho = 560$, что позволяет утверждать, что суммарный поток кислорода (в свободном и связанном состоянии) существенно больше, чем поток кислорода в отсутствие миоглобина. Т.е. миоглобин действительно облегчает диффузию кислорода [56].

Поскольку наибольшая концентрация кислорода поддерживается на левой границе, там и достигается наибольшая концентрация оксимиоглобина. По мере продвижения вглубь реактора концентрация свободного кислорода падает, поскольку он активно расходуется на образование комплексов и диффундирует. При этом несмотря на то, что и концентрация комплексов уменьшается вместе с уменьшением концентрации кислорода, поток оксимиоглобина нарастает по мере продвижения к правой границе! Таким образом, основное количество кислорода переносится к правой границе именно в комплексе с миоглобином. В то же время, на правой границе идет и более интенсивный распад комплекса, так что высвобождается достаточно большое количество кислорода, необходимое для поддержания заданной на правой границе концентрации.

Поэтому несмотря на достаточно медленную диффузию миоглобина, его много и в стационарном режиме он способен транспортировать значительно большее количество кислорода, чем может обеспечить диффузия в сво-

бодной форме.

Естественно, что при условии поддержания постоянных концентраций кислорода на границах интервала диффузии (что, вообще говоря, не является физиологически оправданным требованием) увеличение потока через мембрану фактически означает увеличение общего количества кислорода, циркулирующего в системе. Поэтому в динамических условиях, когда указанные граничные условия не выполняются, достаточно затруднительно сравнивать реальные скорости транспорта кислорода.

6.2.2. Пассивный транспорт при помощи переносчиков (*carrier-mediated transport*)

Мембранные транспортные белки. Рассмотрим еще один тип пассивного транспорта веществ по градиенту концентрации. Клеточные мембраны, так же как и искусственные липидные бислои, способны пропускать воду и неполярные молекулы за счет простой физической диффузии. Однако клеточные мембраны проницаемы также и для различных полярных молекул, таких, как сахара, аминокислоты, нуклеотиды и многие другие метаболиты, которые проходят через мембранный бислой чрезвычайно медленно.

Особенность транспорта этих веществ заключается в том, что они – достаточно большие и не могут самостоятельно диффундировать через мембрану.

За перенос подобных растворенных веществ через клеточные мембраны ответственны специфические белки, называемые *мембранными транспортными белками* (рис. 6.8). Они обнаруживаются во всех типах биологических мембран и могут сильно отличаться друг от друга. Каждый конкретный белок предназначен для определенного класса молекул (например, неорганических ионов, сахаров или аминокислот), а нередко лишь какой-то разновидности молекул из этих классов. Специфичность транспортных белков была впервые показана, когда обнаружилось, что мутации в одном-единственном гене приводят к исчезновению у бактерий способности транспортировать определенные сахара через плазматическую мем-

брану. Аналогичные мутации теперь известны и у людей, страдающих различными наследственными болезнями, при которых нарушается транспорт тех или иных веществ в почках или кишечнике.

Этот вид транспорта, казалось бы, похож на облегченную диффузию, которую мы рассмотрели выше, и во многих источниках он так и называется. Но мы будем пользоваться термином переносчиком-обусловленный транспорт (*carrier-mediated transport*), чтобы подчеркнуть, что данные вещества не могут самостоятельно диффундировать, и транспортные молекулы тоже, как правило не диффундируют, а, связываясь с транспортируемым веществом, претерпевают конформационные преобразования, в результате которых центры связывания на одной стороне мембраны оказываются на противоположной стороне, где транспортируемая молекула может освободиться от транспортной молекулы.

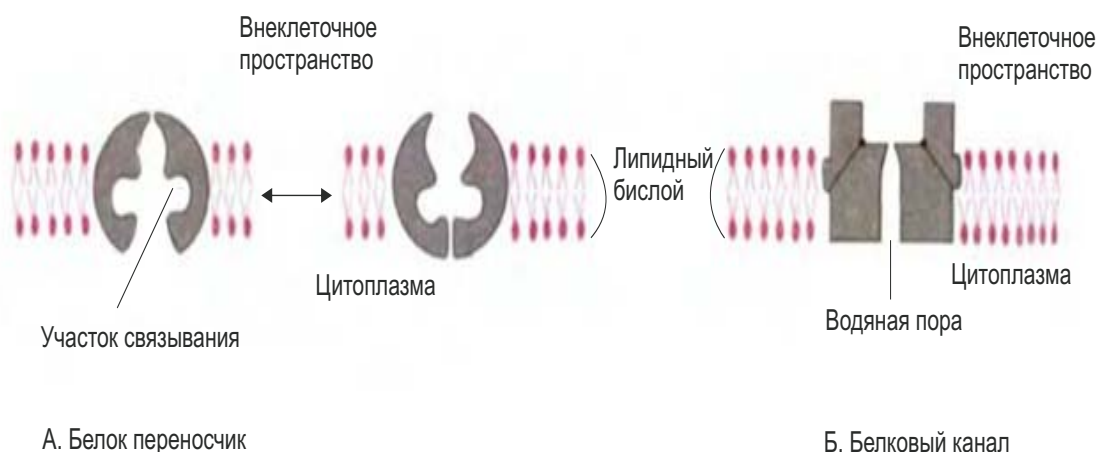


Рис. 6.8. Упрощенное схематическое изображение двух классов мембранных транспортных белков. А. Белок-переносчик может попеременно существовать в двух конформациях, так что участок связывания определенного вещества последовательно доступен то с одной, то с другой стороны бислоя. Б. Каналообразующий белок формирует в липидном бислое заполненные водой поры, через которые могут диффундировать специфические ионы

Многие мембранные транспортные белки изучены достаточно детально, их расположение в мембране точно установлено. Они являются трансмембранными белками, полипептидная цепь которых пересекает липидный бислой несколько раз. Эти белки обеспечивают перенос специфических веществ через мембраны без непосредственного контакта с гидрофобной

внутренностью липидного бислоя, формируя в нем сквозные проходы.

Существуют два основных класса мембранных транспортных белков: *белки-переносчики* и *канал-образующие белки*. Белки-переносчики (называемые также переносчиками или транспортерами) связывают молекулы переносимого вещества, что приводит к их конформационным изменениям и, как результат, к переносу этой молекулы через мембрану (рис. 6.8).

Напротив, канал-образующие белки (или белки-каналы) формируют заполненные водой поры, пронизывающие липидный бислой. Когда эти поры открыты, молекулы специфических веществ (обычно неорганические ионы подходящего размера и заряда) проходят сквозь них и, следовательно, через мембрану [1] (рис. 6.8).

Все канал-образующие белки и многие белки-переносчики позволяют растворенным веществам проходить через мембраны пассивно («с горки»). Если молекула транспортируемого вещества не имеет заряда, то направление пассивного транспорта определяется только разностью концентраций этого вещества по обеим сторонам мембраны (градиентом концентрации). Однако если молекула заряжена, то на ее транспорт влияют как градиент концентрации, так и разница электрических потенциалов на сторонах мембраны (см. следующую главу).

Клеткам также необходимы транспортные белки, активно перекачивающие определенные растворенные вещества против их электрохимических градиентов («в горку»). Этот процесс, известный под названием **активного транспорта**, всегда осуществляется белками-переносчиками. Таким образом, транспорт, осуществляемый белками-переносчиками, может быть как активным, так и пассивным, в то время как транспорт через каналы является всегда пассивным (см. рис. 6.9).

Процесс, с помощью которого белки-переносчики специфически связывают и транспортируют растворенные молекулы через липидный бислой, напоминает ферментативную реакцию, а транспортные белки выступают как особые, связанные с мембраной, ферменты. В белках-переносчиках всех типов имеются участки связывания для транспортируемой молекулы (суб-

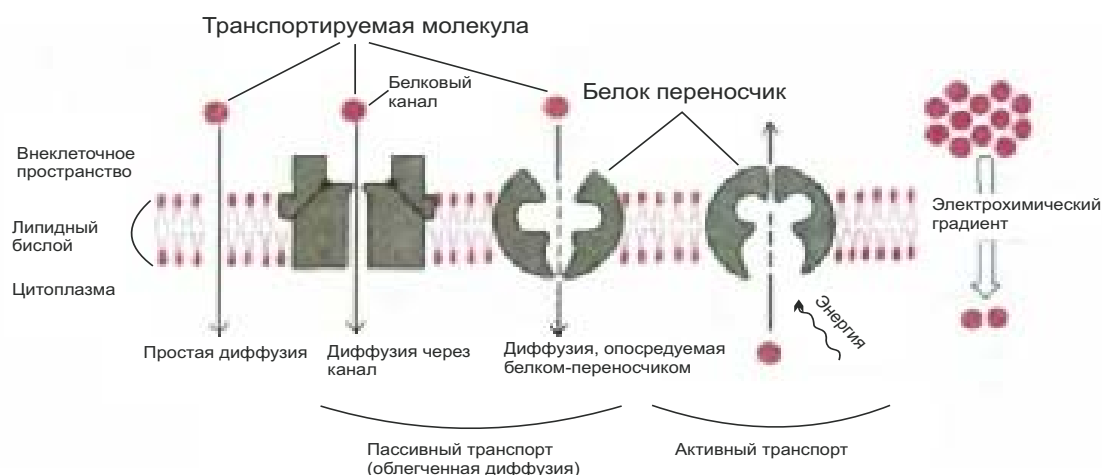


Рис. 6.9. Схематическое изображение пассивного транспорта молекул по электрохимическому градиенту и активного транспорта против градиента. Простая диффузия и пассивный транспорт, осуществляемый транспортными белками (облегченная диффузия) протекают самопроизвольно. Для активного транспорта необходимо использовать метаболическую энергию. Только неполярные и маленькие незаряженные полярные молекулы могут проходить через липидный бислой путем простой диффузии. Перенос других полярных молекул осуществляется белками-переносчиками или при помощи канал-образующих белков.

страта). Когда белок насыщен (т. е. когда все участки связывания заняты), скорость транспорта максимальна. Эта скорость, обозначаемая v_{max} , является характеристикой данного белка-переносчика. Кроме того, каждый белок-переносчик имеет характерную для него константу связывания K_M , равную концентрации транспортируемого вещества, при которой скорость транспорта составляет половину ее максимальной величины. Связывание растворенного вещества может быть специфически блокировано как конкурентными ингибиторами (конкурирующими за тот же участок связывания), так и неконкурентными ингибиторами (связывающимися где-нибудь в другом месте и специфически влияющими на структуру переносчика). Однако в данном случае аналогия с реакцией фермент-субстрат неполная, поскольку некоторые транспортные белки просто переносят какое-либо растворенное вещество с одной стороны мембраны на другую. Такой простой перенос называется **унипортом**. Другие белки функционируют как котранспортные системы, в которых перенос одного растворенного вещества зависит от одновременного или последовательного переноса другого вещества либо в том же направлении (**симпорт**), либо в противоположном

(**антипорт**, рис. 6.10). Например, большинство клеток животных поглощают глюкозу из внеклеточной жидкости, где ее концентрация относительно высока, путем пассивного транспорта, осуществляемого специфическими переносчиками глюкозы, работающими как унипорты. В то же время, клетки кишечника и почек поглощают глюкозу из люменального пространства кишечника и почечных канальцев, где концентрация этого сахара мала. В данном случае имеет место симпорт глюкозы.

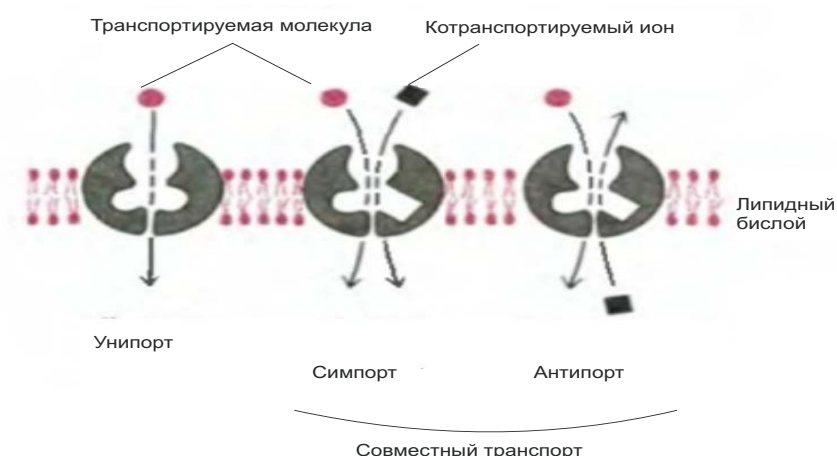


Рис. 6.10. Виды пассивного транспорта молекул. Унипорт, симпорт и антипорт

Молекулярный механизм работы белков-переносчиков не вполне изучен. Предполагается, что они переносят растворенные вещества через бислой, претерпевая обратимые конформационные изменения, которые позволяют им попеременно экспонировать участки связывания растворенных веществ то с одной, то с другой стороны. Переносчики представляют собой трансмембранные белки, цепь которых пересекает бислой несколько раз. Маловероятно, что такие белки беспрестанно перескакивают в мембране из одного монослоя в другой или перемещаются взад-вперед через липидный бислой, как это предполагали раньше.

6.2.3. Юнипорт. Транспорт глюкозы в клетку

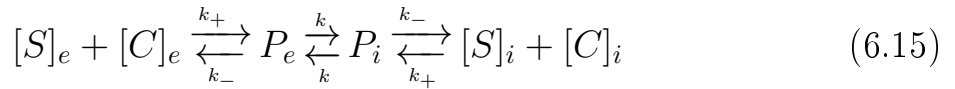
В качестве примера юнипорта рассмотрим транспорт глюкозы в клетку.

Введем обозначение концентраций: S – глюкоза, C – белок-переносчик, P – комплекс $S + C$.

Индекс i (*internal*) обозначает состояние когда активный сайт на переносчике находится внутри клетки, e (*external*) – снаружи. Для глюкозы: S_i – концентрация глюкозы в клетке, S_e – внеклеточная концентрация глюкозы.

Пусть $J = \text{const}$ – стационарный поток глюкозы через мембрану, который устанавливается при поддержании постоянных концентраций глюкозы S_i и S_e с обеих сторон мембраны. Выведем формулу для искомого J .

Выпишем схему преобразований, приводящих к переносу глюкозы с внешней стороны мембраны e на внутреннюю i в результате взаимодействия с белком-переносчиком и конформации комплекса.



Здесь для простоты будем полагать, что переходы (конформация) белка-переносчика (свободного C или связанного с глюкозой P) из состояния e в состояние i и обратно – равновероятны, т.к. транспорт происходит без затрат энергии. Аналогично, взаимодействие субстрата (глюкозы) с транспортным белком также происходит с одинаковыми кинетическими константами по обе стороны мембраны.

Запишем соответствующие уравнения кинетики:

$$\begin{aligned} \frac{ds_e}{dt} &= k_- p_e - k_+ s_e c_e + J \\ \frac{ds_i}{dt} &= k_- p_i - k_+ s_i c_i - J \\ \frac{dp_e}{dt} &= k p_i - k p_e + k_+ s_e c_e - k_- p_e \\ \frac{dp_i}{dt} &= k p_e - k p_i + k_+ s_i c_i - k_- p_i \\ \frac{dc_e}{dt} &= k c_i - k c_e + k_- p_e - k_+ s_e c_e \\ \frac{dc_i}{dt} &= k c_e - k c_i + k_- p_i - k_+ s_i c_i. \end{aligned} \quad (6.17)$$

Заметим, что слагаемые $\pm J$ в уравнениях для s_e , s_i обеспечивают за-

данные постоянные концентрации глюкозы на противоположных сторонах мембраны, компенсируя расход s_e снаружи клетки и приток s_i внутрь клетки в результате транспорта через мембрану.

Условия постоянства выполняются для общего количества рецепторов на молекулах-переносчиках: а) $p_i + p_e + c_i + c_e = c_o = const$, и для общего количества глюкозы около мембраны: б) $s_i + s_e + p_i + p_e = s_o = const$ (из постоянства потока J).

При переходе к стационарному состоянию получаем 6 линейных алгебраических уравнений с 7 неизвестными, включая J . Используя условие постоянства а) выразим поток J через концентрации глюкозы по разные стороны мембраны:

$$J = \frac{1}{2} K_d K k_+ c_o \frac{s_e - s_i}{(s_i + K + K_d)(s_e + K + K_d) - K_d^2} \quad (6.18)$$

где $K = k_-/k_+$, $K_d = k/k_+$.

Из (6.18) видно, что эффективный поток через мембрану направлен снаружи внутрь, когда $s_e > s_i$. При неизменной s_i поток имеет насыщение по росту концентрации s_e , связанное с насыщением скорости реакции взаимодействия глюкозы с переносчиком.

6.2.4. Симпорт и антипорт. Мембранные обменники

Аналогично полученной выше формуле (6.18) для *юнипорта* можно получить модели *симпорта* – однонаправленного переноса нескольких веществ с одной стороны мембраны на противоположную, или модели *антипорта* (обменника) – противоположно-направленного переноса веществ.

В этом случае белок-переносчик имеет несколько активных центров либо по одну, либо по разные стороны мембраны, с которыми взаимодействуют переносимые вещества, затем происходит конформация комплекса и смена положений связывающих центров на противоположные (рис. 6.11).

В общем случае вывод формул затруднен, поэтому, как и раньше, будем предполагать, что конформация белка-переносчика возможна только либо в случае свободной молекулы переносчика (все активные центры сво-

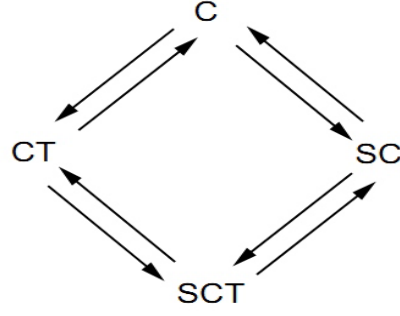
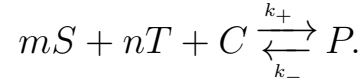


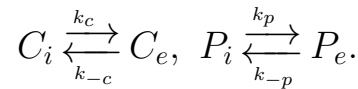
Рис. 6.11. Возможные конформации белка-переносчика с двумя субстратами S and T и одним центром связывания для каждого. $P = SCT$

бодны), либо в случае полностью заполненного комплекса, когда все места связывания заняты соответствующими субстратами – молекулами транспортируемых веществ. Так в примере, представленном на рисунке 6.11, полным комплексом, способным совершать конформационные преобразования, будем считать $P = SCT$.

Тогда схему реакции можно представить следующим образом:



Далее, свободный белок C и полный комплекс P могут совершать конформационные переходы с соответствующими константами скоростей:



Однако, для простоты предположим, что переходы (конформация) белка-переносчика (свободного C или связанного с субстратом P) из состояния e в состояние i и обратно – равновероятны, т.е. $k = k_c = k_{-c} = k_p = k_{-p}$, и взаимодействие субстрата с транспортным белком происходит с одинаковыми кинетическими константами k_- , k_+ по обе стороны мембраны.

Тогда для симпорта можно получить следующую формулу потока:

$$J = \frac{1}{2} K_d K k_{co} \frac{s_e^m t_e^n - s_i^m t_i^n}{(s_i^m t_i^n + K + K_d)(s_e^m t_e^n + K + K_d) - K_d^2}, \quad (6.19)$$

где $K = \frac{k_-}{k_+}$, $K_d = \frac{k}{k_+}$.

Для антипорта справедлива аналогичная формула:

$$J = \frac{1}{2} K_d K k c_o \frac{s_e^m t_i^n - s_i^m t_e^n}{(s_i^m t_e^n + K + K_d)(s_e^m t_i^n + K + K_d) - K_d^2}. \quad (6.20)$$

Заметим, что поток ионов s равен mJ , а поток ионов t равен nJ .

Рассматриваемые процессы симпорта и антипорта предполагаются пассивными, не требующими затрат энергии. При этом либо оба вещества транспортируются по градиенту концентрации, либо энергии, запасенной в химическом градиенте одного вещества достаточно, чтобы транспортировать другое вещество против градиента концентрации.

Так, например, происходит в случае работы одного из ключевых механизмов транспорта ионов в мышечных и нервных клетках – $Na^+ - Ca^{2+}$ обменника. Как правило, этот обменник может обменивать 3 иона Na^+ , транспортируемых снаружи внутрь клетки (по градиенту концентрации), на 1 ион Ca^{2+} , переносимый изнутри наружу клетки (против градиента). В этом случае энергии, запасенной в химическом градиенте ионов Na^+ достаточно, чтобы наряду с пассивным транспортом ионов Na^+ по градиенту концентрации ко-транспортировать ионы Ca^{2+} против градиента концентрации. Такой режим работы $Na^+ - Ca^{2+}$ обменника называется прямой модой (*forward mode*).

Рассмотрим условие, которое должно выполняться для работы $Na^+ - Ca^{2+}$ обменника в прямой моде, т.е. выпишем условие, когда поток J в формуле (6.20) – положительный, где s и t обозначают концентрации ионов Na^+ и Ca^{2+} , $m = 3$ и $n = 1$, соответственно:

$$\frac{t_i}{t_e} > \left(\frac{s_i}{s_e}\right)^3.$$

Видно, что это условие значительно проще выполнить при $m = 3$ нежели при $m = 1$, т.к. при фиксированном $s_i/s_e < 1$ оно выполняется при меньших значениях $t_i/t_e < 1$.

Следует отметить, что в случае $Na^+ - Ca^{2+}$ обменника ситуация ослож-

няется тем, что осуществляемый через него поток ионов не является электронейтральным ($3Na^+ : 1Ca^{2+}$) и, следовательно, в значительной степени зависит от разности потенциалов на мембране. В частности, при определенных величинах мембранного потенциала $Na^+ - Ca^{2+}$ обменный ток даже может менять направление, т.е. обменник может функционировать в обратном режиме (*reverse mode*) и транслоцировать ионы Na^+ против градиента концентрации из клетки, в обмен на поступление ионов Ca^{2+} в клетку.

6.2.5. Активный транспорт

$Na^+ - K^+$ – насос ($Na^+ - K^+$ АТФаза) Примером белка-переносчика, использующего энергию гидролиза аденозинтрифосфата (АТФ) для перекачки ионов Na^+ и K^+ служит $Na^+ - K^+$ -насос, играющий решающую роль в поддержании их неравновесных концентраций в клетке и формировании мембранного потенциала на плазматических мембранах животных клеток [1]. Создаваемая ферментом разница концентраций катионов используется для протекания ключевых реакций жизнедеятельности – генерации возбуждения, водно-солевого обмена, а также для регуляции клеточного метаболизма.

$Na^+ - K^+$ -насос или $Na^+ - K^+$ АТФаза – фермент клеточной мембраны животных тканей, который избирательно выкачивает из клетки ионы Na^+ и аккумулирует в ней ионы K^+ , используя для этой работы энергию АТФ. Концентрация K^+ внутри клетки, как правило, в 10-20 раз выше, чем снаружи. Для ионов Na^+ – картина прямо противоположная. $Na^+ - K^+$ -насос работает по принципу антипорта, активно перекачивая Na^+ из клеток, а K^+ внутрь клеток против их высоких электрохимических градиентов. Почти треть всей энергии, необходимой для жизнедеятельности клетки животных, расходуется именно на работу этого насоса. В электрически активных нервных клетках при распространении потенциала действия происходит многократное накопление небольших порций Na^+ и потери небольших количеств K^+ . При этом на восстановление концентраций этих ионов уходит до 2/3 энергии, необходимой клетке. Значительный шаг вперед в

понимании молекулярного механизма работы натриево-калиевого насоса был сделан в 1957 г., когда обнаружилось, что для оптимальной активности фермента, гидролизующего АТФ до АДФ и неорганического фосфата требуется соотношение $3Na^+ : 2K^+$.

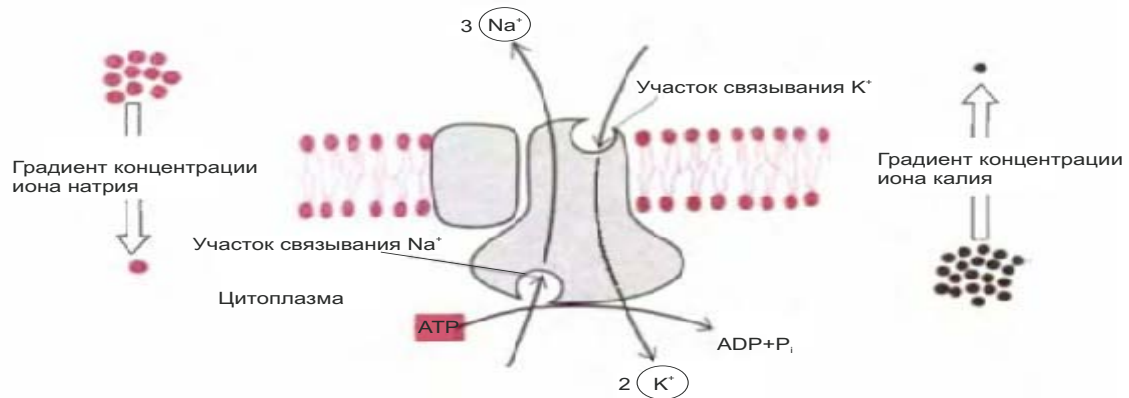


Рис. 6.12. Na^+K^+ -АТФаза активно перекачивает ионы Na^+ наружу, а K^+ внутрь клетки против их электрохимических градиентов

При гидролизе каждой молекулы АТФ три иона Na^+ выводятся из клетки и два иона K^+ поступают в клетку (рис. 6.12). Перенос обоих видов ионов происходит против градиента концентрации, т.е. – это энергоемкий процесс.

Схему этой реакции можно записать в следующем виде:



где E – молекула АТФазы, ATP – молекула АТФ, которая при гидролизе преобразуется в молекулу АДФ (ADP) с последующим высвобождением неорганического фосфата P_i .

Положим для простоты, что реакция взаимодействия переносчика с ионами Na^+ и K^+ происходит в соотношении $1Na^+ : 1K^+$. Обозначим молекулу переносчика C . Последовательные преобразования комплекса можно описать следующим образом (рис. 6.13, [56]):

1. В дефосфорилированном состоянии фермента активные места связывания ионов Na^+ расположены на внутренней стороне мембраны. Три

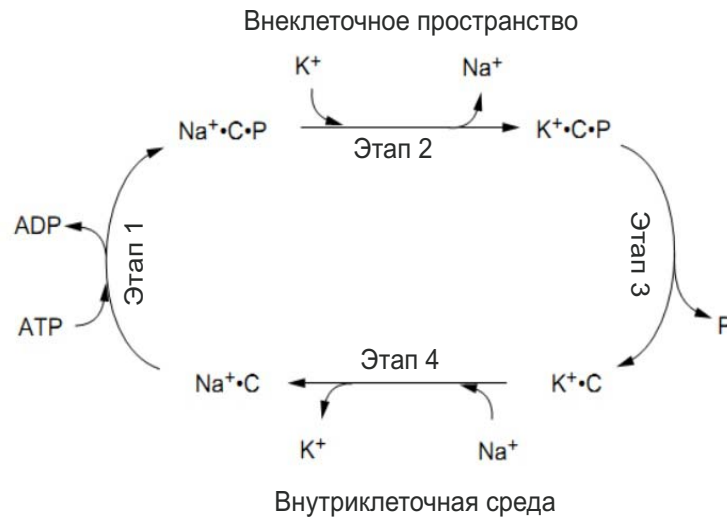


Рис. 6.13. Реакционная диаграмма для Na^+ - K^+ -насоса

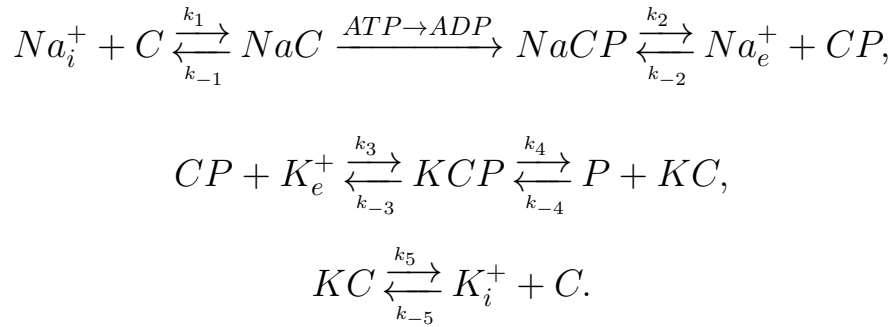
иона Na^+ присоединяются к АТФазе, затем происходит ее фосфорилирование за счет гидролиза АТФ.

2. Конформация комплекса, при которой места связывания Na^+ оказываются на внешней стороне мембраны, понижение сродства белка и отсоединение Na^+ на внешней стороне мембраны (см. таблицу 6.3 для сравнения значений константы равновесия K_d для насоса на внутренней и наружной стороне мембраны клетки). Параллельно происходит присоединение ионов K^+ к активным местам на внешней стороне мембраны.
3. Дефосфорилирование переносчика (отсоединением неорганического фосфата) и конформационное преобразование с поворотом мест связывания K^+ на внутреннюю сторону мембраны.
4. Отсоединение ионов K^+ за счет снижения сродства переносчика и повтор цикла.

Таблица 6.3. Константы равновесия для Na^+ - K^+ насоса

Ион	K_d (мМ)	
Na^+	1.3	Внутри
K^+	12	Внутри
Na^+	32	Снаружи
K^+	0.14	Снаружи

Соответствующая формализованная схема преобразований $Na^+ - K^+$ -АТФазы имеет вид



Если выписать кинетические уравнения для соответствующих фаз реакции и использовать псевдостационарные приближения для всех состояний комплекса фермента с субстратами (Na^+ и K^+), то можно получить следующую формулу для стационарного потока ионов при условии поддерживаемых концентраций Na^+ и K^+ по обе стороны мембраны [56]:

$$J = C_o \frac{[Na_i^+][K_e^+]K_1K_2 - [Na_e^+][K_i^+]K_{-1}K_{-2}[P]}{([K_e^+]K_2 + [K_i^+]K_{-2})K_n + ([Na_i^+]K_1 + [Na_e^+]K_{-1})K_k},$$

где $K_1 = k_1k_2k_p$, $K_{-1} = k_{-1}k_{-2}k_{-p}$, $K_2 = k_3k_4k_5$, $K_{-2} = k_{-3}k_{-4}k_{-5}$, $K_n = k_{-1}k_{-p} + k_2k_{-1} + k_2k_p$, $K_k = k_{-3}k_{-4}[P] + k_{-3}k_5 + k_4k_5$. Константы скорости k_p и k_{-p} – константы скорости прямой и обратной фазы насоса для гидролиза АТФ. Как и ранее, суммарная концентрация молекулы-переносчика обозначена C_o .

Заметим, что реальных условиях в клетке обратное преобразование $ADP \rightarrow ATP$ маловероятно в ходе данной реакции, то $k_p \gg k_{-p}$ и ,

следовательно, $K_{-1} = 0$, так что формула потока упрощается:

$$J = C_o K_1 K_2 \frac{[Na_i^+][K_e^+]}{([K_e^+]K_2 + [K_i^+]K_{-2})K_n + [Na_i^+]K_1 K_k},$$

и поток становится практически независимым от концентрации Na_e^+ снаружи клетки. Эта формула еще больше напоминает гиперболические зависимости для скоростей фермент-субстратных реакций, которые мы видели в предыдущих разделах.

Заметим, что поскольку $Na^+ - K^+$ -АТФаза транспортирует три положительно заряженных иона Na^+ в обмен на два иона K^+ , она оказывается «электрогенной». Это значит, что через мембрану течет ток, и работа насоса также зависит от электрического потенциала на мембране и вносит вклад в изменение формирования этого потенциала.



Рис. 6.14. Реакция эритроцитов человека на изменение осмотических условий во внеклеточной жидкости. Вода всасывается в клетку или выходит из нее по градиенту концентрации, поскольку плазматическая мембрана хорошо проницаема для молекул воды. Этот процесс называется осмосом. При помещении клеток в гипотонический раствор (т.е. в раствор с низкой концентрацией соли и, следовательно, с высокой концентрацией воды) молекулы воды движутся внутрь клеток, что приводит к их разбуханию и разрыву (лизису). Наоборот, при помещении клеток в гипертонический раствор они будут сморщиваться

$Na^+ - K^+$ -АТФаза играет непосредственную роль в регуляции клеточного объема. Она контролирует концентрацию растворов внутри клетки, а следовательно, и осмотические силы, приводящие к разбуханию или сжатию клетки (рис. 6.14). Важная роль $Na^+ - K^+$ -АТФазы в регуляции кле-

точного объема подтверждается тем фактом, что при обработке животных клеток убаином, ингибирующим натриево-калиевую АТФазу, они разбухают и разрываются. Осмотические проблемы могут решаться в клетках и другими способами. У многих бактерий и растительных клеток плазматическая мембрана окружена полужесткой стенкой, предохраняющей клетку от разрыва. У амёб излишек воды, проникающий внутрь в результате осмоса, собирается в сократительных вакуолях, периодически выбрасывающих свое содержимое наружу. Однако в большинстве животных клеток основная роль в предотвращении разрыва из-за осмотического давления принадлежит $Na^+ - K^+$ -АТФазе.

Кальциевый насос в клетке Ионы Ca^{2+} играют важную регуляторную роль во многих клетках, в частности, в мышечных клетках. Концентрация ионов Ca^{2+} в цитозоле клеток поддерживается на гораздо более низком уровне ($\sim 10^{-7}M$) по сравнению с его концентрацией снаружи клетки ($\sim 10^{-3}M$). Поэтому даже небольшой приток Ca^{2+} извне или из внутриклеточных накопителей значительно увеличивает концентрацию свободного Ca^{2+} в цитозоле, и поэтому ее изменение во времени может служить необходимым стимулом для последующих внутриклеточных событий, например, для сокращения мышечных клеток (см. раздел 8). Градиент концентрации Ca^{2+} частично поддерживается при помощи $Na^+ - Ca^{2+}$ обменников, а также при помощи мембранных Ca^{2+} -насосов, активно выводящих кальций из цитозоля клетки против градиента концентрации. В мышечных клетках наряду с сарколеммальным Ca^{2+} -насосом, транслоцирующим ионы Ca^{2+} из клетки наружу значительную роль в кинетике внутриклеточного кальция играют Ca^{2+} -насосы саркоплазматического ретикулума (СР) – специализированного внутриклеточного накопителя кальция. В ответ на электрическое возбуждение клетки Ca^{2+} высвобождается из СР в цитозоль, активируя сократительные белки и инициируя процесс сокращения мышцы, а затем поглощается обратно в СР, обеспечивая расслабление клетки. Поскольку объем СР составляет около 3 % объема клетки, концентрация кальция в СР на 3 порядка величин выше, чем в цитозоле, поэтому

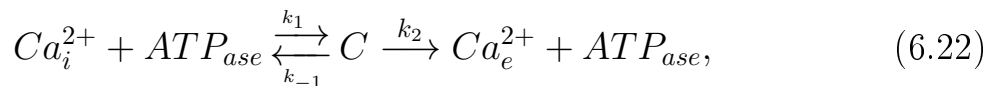
Ca^{2+} -насосы СР также работают против градиента концентрации, т.е. с затратами энергии. Подобно $Na^+ - K^+$ -АТФазе, Ca^{2+} -насос – также АТФаза, которая фосфорилируется и дефосфорилируется в каждом цикле работы и транслоцирует два иона Ca^{2+} наружу клетки или внутрь СР в расчете на каждую гидролизованную молекулу АТФ.

В немышечных клетках также имеются внутриклеточные органеллы, содержащие Ca^{2+} -АТФазу, выкачивающую Ca^{2+} из цитозоля [1].

Пусть $[Ca^{2+}]_i$ – концентрация кальция в цитозоле, а $[Ca^{2+}]_e$ – концентрация кальция во внеклеточном пространстве (или внутри СР), $[Ca^{2+}]_i < [Ca^{2+}]_e$. Для переноса Ca^{2+} изнутри клетки – наружу (или в СР) молекула АТФазы должна связать ионы Ca^{2+} и молекулу АТФ в цитозоле, гидролизовать АТФ (с образованием АДФ и сбросом фосфата) и за счет энергии гидролиза АТФ совершить конформационное преобразование и перенести ионы Ca^{2+} через мембрану наружу клетки (или в СР) и "сбросить" их там.

Считается, что в нормальных условиях АТФ в клетке всегда в избытке. Поэтому скорость гидролиза можно считать равной v_{maxATP} . Поэтому скорость потока Ca^{2+} через насос лимитируется кинетикой связывания-распада Ca^{2+} и АТФазы в цитозоле и снаружи клетки (или в СР), а также соотношением характерных времен этой реакции и гидролиза АТФ.

Можно схему реакции записать в следующем упрощенном виде:



где k_2 определяется величиной v_{maxATP} , а C – общее обозначение для комплекса, принимающего последовательно одно из трех состояний: $(Ca^{2+} \cdot ATP_{ase} \cdot ATP)$, $(Ca^{2+} \cdot ATP_{ase} \cdot ADP)$, или $(Ca^{2+} \cdot ATP_{ase})$.

В предположении взаимодействия фермента с одним ионом Ca^{2+} квазистационарная аппроксимация, аналогичная той, что мы использовали для ферментативной кинетики, позволяет получить следующую формулу для

скорости реакции и соответствующего потока Ca^{2+} через мембрану:

$$v = \frac{d[Ca^{2+}]_e}{dt} = k_2 e_o \frac{[Ca^{2+}]_i}{K_m + [Ca^{2+}]_i} = v_{max} \frac{[Ca^{2+}]_i}{K_m + [Ca^{2+}]_i}, \quad (6.23)$$

где $K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$, v_{max} пропорциональна k_2 и зависит от v_{maxATP} [56].

В случае конформации АТФазы при присоединении двух ионов Ca^{2+} гиперболическая зависимость в (6.23) заменяется на кривую Хилла с коэффициентом $n = 2$:

$$v = \frac{d[Ca^{2+}]_e}{dt} = v_{max} \frac{[Ca^{2+}]_i^2}{K^2 + [Ca^{2+}]_i^2}.$$

7. МОДЕЛИ ВОЗБУДИМЫХ СРЕД

7.1. Мембранный потенциал. Потенциал покоя

Клеточная мембрана при определенных условиях и в разной степени является проницаемой для одних видов заряженных частиц, например, ионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- и др., но непроницаемой для других видов заряженных частиц, например, для больших молекул белков, обладающих собственным, как правило, отрицательным зарядом. Поэтому суммарный заряд внутри и снаружи клетки не одинаковый, что обуславливает наличие *разности потенциалов* на мембране. Традиционно под разностью потенциалов принимают разность потенциалов внутри и снаружи клетки: $V = V_i - V_e$. Поскольку основной заряд в клетке определяется именно анионами, то внутренность клетки заряжена отрицательно. А заряд внеклеточной среды определяют диссоциировавшие соли, т.е. катионы.

Потенциал покоя (ПП) – разность потенциалов, наблюдаемая в невозбужденном состоянии клетки. ПП равен примерно -80 – -90 мВ. Это значит, что внутри клетки в покое (в невозбужденном состоянии) содержится более отрицательный заряд, чем снаружи.

Все клетки делятся на 2 типа: возбудимые и невозбудимые. К невозбудимым клеткам относятся клетки, у которых стимулирующее воздействие электрическим током не приводит к значительным отклонениям потенциала от ПП. При воздействии на них внешним стимулирующим током разность потенциалов меняется, но незначительно, и возвращается к ПП, как только стимулирующий ток прекращается. К невозбудимым клеткам относятся, например, эпителиальные клетки, выстилающие стенки кишечника.

В возбудимых клетках разность потенциалов под действием электрического тока значительно изменяется. После кратковременного воздействия стимулирующим током мембранный потенциал проходит через ряд стадий изменения, которые формируют так называемый *потенциал действия* (ПД), после чего мембрана возвращается в состояние покоя. К возбудимым

клеткам относятся нервные клетки, мышечные клетки и секреторные клетки.

7.1.1. Потенциал Нернста

Равновесная разность потенциалов для определенного типа иона, которая устанавливается на границе раздела 2-х фаз, например, на клеточной мембране, в результате выравнивания потоков ионов, обусловленных градиентом концентрации этого иона по разные стороны границы и электрическим полем, возникающего из-за неравенства заряда вблизи границы фаз, называется *потенциалом равновесия* или *потенциалом Нернста*.

Рассмотрим два резервуара, разделенных полупроницаемой мембраной и содержащих один и тот же ион S . Концентрации иона отличаются в резервуарах (рис. 7.1). Предположим, что растворы, находящиеся по обе стороны мембраны электронейтральны (по крайней мере в начальный момент времени), следовательно, заряд каждого иона S сбалансирован зарядом другого иона S' противоположного знака. Например, положим, что S – это ионы Na^+ , а S' – ионы Cl^- . Будем считать для определенности, что с левой стороны мембраны находится внутриклеточное пространство, а с правой – внеклеточная среда.

В случае, если мембрана проницаема к S , но не к S' , то различие концентраций по обе стороны мембраны приведет к потоку иона S с одной стороны мембраны на другую, положим с левой на правую. Поскольку ионы S' не могут диффундировать через мембрану, диффузия ионов S приводит к накоплению заряда по разные стороны мембраны (например, положительного заряда справа мембраны и отрицательного слева). Эта разница зарядов создает электрическое поле, которое препятствует последующей диффузии ионов S через мембрану. Равновесие достигается, когда электрическое поле полностью компенсирует диффузию ионов S , так что суммарный поток ионов через мембрану будет равен нулю.

Отметим, что в положении равновесия за счет диффузии ионов несколько изменится их концентрация по обе стороны мембраны, поэтому ни одна

из сторон не будет абсолютно электронейтральной. Однако важно отметить, что хотя диффузия ионов S приводит к появлению электрического потенциала, только небольшое количество ионов S диффундирует через мембрану. Поэтому можно считать, что концентрация ионов S в растворах по обеим сторонам мембраны не меняется и они остаются электронейтральными.



Рис. 7.1. Два резервуара, содержащие растворы с различными концентрациями иона S , разделенные мембраной

Для равновесного потенциала V_S для одиночного иона справедлива формула Нернста:

$$V_S = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[S]_e}{[S]_i}, \quad (7.1)$$

где $[S]_e$ и $[S]_i$ – концентрации ионов данного вида (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и т.д.) снаружи и внутри клетки, R – газовая постоянная, T – абсолютная температура, F – число Фарадея, z – заряд иона.

Формула Нернста может быть получена на основе основополагающих законов термодинамики и рассмотрения электрохимических потенциалов соответствующих фаз. Ниже мы приводим другой, более формальный вывод формулы Нернста из стационарного уравнения электро-диффузии Нернста-Планка.

Когда мембранный потенциал равен V_S , градиент концентраций в точности сбалансирован электрическим полем. Поэтому поток ионов через мем-

брану (и соответственно электрический ток) отсутствует.

Например, для мышечных сердечных клеток потенциал равновесия V_{Na} для ионов Na^+ составляет примерно +60 мВ при нормальной внеклеточной концентрации ионов $[Na^+]_e = 140$ ммоль и внутриклеточной $[Na^+]_i = 5$ ммоль. Потенциал равновесия V_K для ионов K^+ составляет приблизительно -90 мВ при концентрации $[K^+]_i = 145$ ммоль внутри клетки и $[K^+]_e = 4$ ммоль во внеклеточной жидкости. Потенциал равновесия V_{Ca} для ионов Ca^{2+} равен приблизительно +100 мВ.

В реальности клеточные мембраны не бывают избирательно проницаемы только для ионов Na^+ или только для ионов K^+ . Поэтому равновесный потенциал клетки, т.е. ПП, отличается от равновесных потенциалов для какого-либо одного иона. При этом ПП наиболее близок к равновесному потенциалу V_K , что указывает на существенно различную проницаемость мембраны для ионов разного вида в покое и позволяет предположить наибольшую проницаемость для ионов K^+ по сравнению с другими ионами. Равновесный потенциал покоя в клетке является результатом взаимной компенсации нескольких токов (см. ниже формулу для ПП).

7.1.2. Уравнение электродиффузии Нернста-Планка. Вывод формулы Нернста

Рассмотрим математическое описание процесса электро-диффузии.

Поток ионов через мембрану определяется и градиентом концентраций, и электрическим полем. Вклад, обусловленный градиентом концентраций, описывается рассмотренным ранее законом Фика (6.2). Вклад, обусловленный электрическим полем, описывается уравнением Планка:

$$J(x, t) = -u \frac{z}{|z|} c \nabla \phi,$$

здесь c – концентрация заряженных частиц (ионов S), u – подвижность, т.е. скорость движения ионов при постоянном единичном электрическом поле, z – валентность иона, $z/|z|$ определяет направление движущей силы иона, ϕ – электрический потенциал, $\nabla \phi$ – градиент потенциала, создающий

электрическое поле, обуславливающее движение ионов.

Справедливо найденное Эйнштейном соотношение между подвижностью u и коэффициентом диффузии D в формуле Фика:

$$D = u \frac{RT}{|z|F} \Rightarrow u = D \frac{|z|F}{RT}.$$

Суммарный эффект концентрационного и электрического градиентов предполагается аддитивным, т.е. в целом поток описывается уравнением Нернста-Планка:

$$J(x, t) = -D(\nabla c + \frac{zF}{RT}c\nabla\phi). \quad (7.2)$$

Для потока ионов через мембрану можно использовать одномерный (скалярный) вариант уравнения Нернста-Планка:

$$J(x, t) = -D(\frac{\partial c}{\partial x} + \frac{zF}{RT}c\frac{\partial \phi}{\partial x}), \quad (7.3)$$

где пространственная переменная x задает положение точки в толще мембраны.

Обозначим $x = 0$ – внутреннюю (*inner*) сторону мембраны, $x = L$ – наружную (*outer*) сторону, и зададим следующие постоянные граничные условия задачи: $c(0, t) = c_i$, $c(L, t) = c_o$.

Выведем формулу Нернста из условия равновесия между диффузионным и электрическим потоками, т.е. равенства нулю потока иона $J = 0$ в уравнении (7.3):

$$-D(\frac{dc}{dx} + \frac{zF}{RT}c\frac{d\phi}{dx}) = 0.$$

Отсюда имеем:

$$\frac{1}{c} \frac{dc}{dx} + \frac{zF}{RT} \frac{d\phi}{dx} = 0.$$

Интегрируя это равенство по x на отрезке $[0, L]$ получаем:

$$\ln(c_o) - \ln(c_i) = -\frac{zF}{RT}(\phi_o - \phi_i),$$

здесь ϕ_o и ϕ_i – потенциалы на внешней и внутренней границе мембраны.

Пользуясь договоренностью обозначать разность потенциалов на мембране как разность потенциалов внутри и снаружи клетки: $V = \phi_i - \phi_o$, из выписанного равновесного соотношения получим формулу Нернста для равновесного потенциала:

$$V_S = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_o}{c_i}.$$

7.1.3. Уравнение Голдмана-Ходжкина-Каца. Потенциал покоя

Предположим, что электрическое поле постоянно в толще мембраны. Это приближение называется приближением постоянного поля и не учитывает локальных отличий в плотности заряда в мембране в результате движения зарядов.

Пусть, как и раньше, $x = 0$ обозначает внутреннюю сторону мембраны, $x = L$ – ее наружную сторону, $c(0, t) = c_i$, $c(L, t) = c_o$ – концентрации иона S внутри и снаружи клетки.

Обозначим разность потенциалов между внутренней и внешней стороной мембраны $V = \varphi(0) - \varphi(L)$. Пусть J – стационарный поток, при котором $\frac{\partial c}{\partial t} = 0$. Поэтому из уравнения диффузии $\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{\partial J}{\partial x}$ следует, что $J = \text{const}$ и не зависит от x .

Постоянство поля означает, что

$$\frac{\partial \varphi}{\partial x} = \text{const} = K \Rightarrow \varphi(x) - \varphi(0) = Kx \Rightarrow \varphi(L) - \varphi(0) = KL \Rightarrow K = \frac{\varphi(L) - \varphi(0)}{L} =$$

Отсюда имеем:

$$\frac{\partial \varphi}{\partial x} = -\frac{V}{L}. \quad (7.4)$$

Подставив (7.4) в уравнение Нернста-Планка (7.3), получим:

$$J = -D \left(\frac{dc}{dx} - \frac{zF}{RT} \cdot \frac{V}{L} \cdot c \right),$$

имеем следующее линейное неоднородное уравнение для c :

$$\frac{dc}{dx} - \frac{zFV}{RTL} c + \frac{J}{D} = 0.$$

Решив его и подставив граничные условия для c , получим следующую формулу для потока J :

$$J = \frac{D}{L} \frac{zFV}{RT} \frac{c_i - c_o \exp\left(-\frac{zFV}{RT}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{zFV}{RT}\right)}. \quad (7.5)$$

Здесь J – плотность потока (поток через единичную площадь поверхности), выраженный в молях в единицу времени на единицу площади.

Для перехода к плотности электрического тока (ток на единицу площади) I_S следует умножить J на zF , т.е. на число зарядов, переносимых одним моле иона S :

$$I_S = P_S \frac{z^2 F^2}{RT} V \frac{c_i - c_o \exp\left(-\frac{zFV}{RT}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{zFV}{RT}\right)}, \quad (7.6)$$

где $P_S = D/L$ – проницаемость мембраны к иону S .

Формула (7.6), связывающая разность потенциалов на мембране и вызываемый этой разностью потенциалов электрический ток называется *уравнением Голдмана-Ходжкина-Каца* (ГХК). Это одно из ключевых уравнений, используемых в моделях электрической активности клеток.

Если в (7.5) положить $J = 0$, то можно вновь получить формулу для потенциала равновесия. Как и должно быть, $V = V_S = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_o}{c_i}$ – т.е. потенциал Нернста. Иными словами, когда мембрана разделяет ионы только одного вида S , то отсутствие тока через мембрану определяется равенством мембранного потенциала равновесному потенциалу Нернста.

Если же мембрана разделяет несколько типов ионов, равновесный потенциал на мембране не равен потенциалу Нернста ни для одного из типов ионов. Уравнение ГХК позволяет найти потенциал покоя V_r , при котором будет отсутствовать суммарный электрический ток через мембрану, не смотря на то, что отдельные токи различных ионов могут быть ненулевыми (поскольку их потенциалы Нернста не совпадают с V_r).

Разделим все ионы на 2 группы в соответствии с валентностью z ($z > 0$ и $z < 0$). Для простоты будем считать, что $z = \pm 1$. Суммарный поток ионов равен сумме потоков для всех ионов, выраженных формулой ГХК. Приравняем суммарный поток к нулю и получим выражение для V_r :

$$0 = \sum_{j(z=1)} P_j \frac{c_i^{(j)} - c_o^{(j)} \exp\left(-\frac{FV_r}{RT}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{FV_r}{RT}\right)} + \sum_{j(z=-1)} P_j \frac{c_i^{(j)} - c_o^{(j)} \exp\left(\frac{FV_r}{RT}\right)}{1 - \exp\left(\frac{FV_r}{RT}\right)},$$

где $P_j = \frac{D_j}{L}$.

Это равенство можно разрешить относительно $\exp\left(\frac{FV_r}{RT}\right)$, а затем прологарифмировав, получить формулу для V_r :

$$V_r = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{\sum_{j(z=1)} P_j c_o^{(j)} + \sum_{j(z=-1)} P_j c_i^{(j)}}{\sum_{j(z=1)} P_j c_i^{(j)} + \sum_{j(z=-1)} P_j c_o^{(j)}} \right).$$

Т.е. в числителе под логарифмом стоит взвешенная сумма внешних концентраций положительно заряженных ионов и внутренних концентраций отрицательно заряженных ионов, а в знаменателе наоборот – взвешенная сумма внутренних концентраций положительно заряженных ионов и внешних концентраций отрицательно заряженных ионов. Этот потенциал называется *потенциалом Голдмана-Ходжкина-Каца*.

В частности, если мембрана разделяет ионы $Na^+(z = 1)$, $K^+(z = 1)$ и $Cl^-(z = -1)$, то потенциал ГХК имеет вид:

$$V_r = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_{Na}[Na^+]_o + P_K[K^+]_o + P_{Cl}[Cl^-]_i}{P_{Na}[Na^+]_i + P_K[K^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_o} \right).$$

Эта формула говорит о том, что вклад ионов каждого вида в мембранный потенциал покоя определяется градиентом концентрации этих ионов и проводимостью мембраны для данного вида ионов.

Проницаемость мембраны для ионов Na^+ , K^+ , Cl^- различна. Отношение проницаемостей в покое таково: $P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0.04 : 0.05$, т.е.

мембрана в покое практически непроницаема для ионов Na^+ по сравнению с ионами K^+ . Действительно, потенциал покоя в клетках имеет значение, близкое к значению потенциала ГХК, который, в свою очередь, в силу относительно малой проводимости мембраны ко всем ионам за исключением ионов K^+ близок к равновесному потенциалу Нернста для ионов K^+ .

И уравнение Нернста, и уравнение ГХК определяют соотношение между мембранным потенциалом и ионными концентрациями в стационарном состоянии, когда большинство ионных каналов на мембране закрыты, и потенциал в основном определяется простой электродиффузией ионов через мембрану.

7.2. Модель мембраны как электрической цепи

Поскольку мембрана разделяет заряды, ее можно рассматривать как конденсатор, обладающий определенной электроемкостью:

$$C_m = \frac{\epsilon\epsilon_0 S}{d} = \frac{Q}{V},$$

здесь S – площадь обкладки конденсатора (площадь поверхности клетки), d – расстояние между обкладками (толщина мембраны), $S \gg d$, ϵ – относительная диэлектрическая проницаемость, а $\epsilon_0 = 8.8542 \cdot 10^{-12}$ – проницаемость вакуума, Q – заряд на обкладке, $V = V_i - V_o$ – разность потенциалов внутри и снаружи клетки.

Обкладками мембраны как конденсатора являются электролиты внутри и снаружи клетки, диэлектриком – сама мембрана. Емкость мембраны составляет около $1.0 \mu F/cm^2$. Отсюда можно получить относительную диэлектрическую константу мембраны $\epsilon \approx 8.5$.

Клеточная мембрана может быть представлена в виде электрической цепи (рис. 7.2). Предполагается, что мембрана работает как емкостное сопротивление (конденсатор), соединенный параллельно с сопротивлением (резистором), через который может течь ионный ток (т.е. ток через ионный канал).

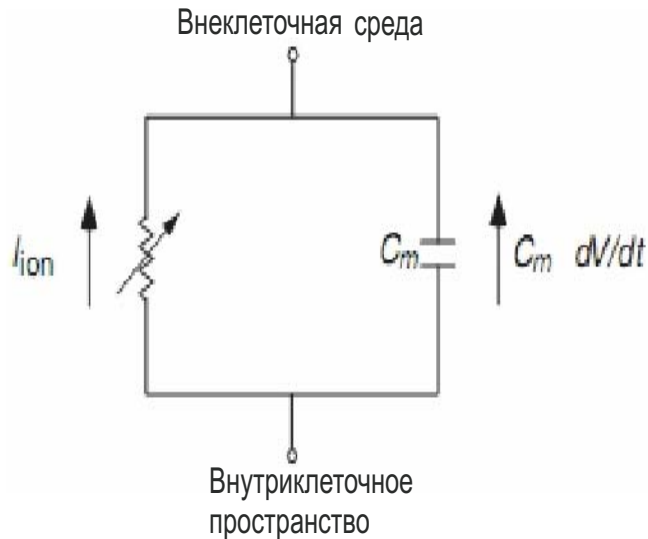


Рис. 7.2. Схема мембраны как электрической цепи

Поскольку ток – это производная заряда по времени, можно выразить емкостной ток через конденсатор в виде:

$$I_c = \frac{dQ}{dt} = C_m \frac{dV}{dt}.$$

Растворы по обе стороны мембраны электрически нейтральны, т.е. разность потенциалов между любыми двумя точками пространства внутри (или снаружи) клетки равна нулю. Т.е. внутри/снаружи клетки происходит простая диффузия, а не электродиффузия ионов. Это позволяет утверждать, что накопления заряда по разные стороны мембраны не происходит. Заряд – только на границах мембраны (внутренней и внешней), т.е. на обкладках конденсатора.

Поскольку нет результирующего накопления заряда на каждой из сторон мембраны (или согласно первому закону Кирхгофа, т.к. все поле сосредоточено в мембране, во внеклеточной и внутриклеточной жидкости нет ни поля, ни токов), сумма ионного и емкостного тока должна быть равна нулю, т.е.:

$$I_c + I_{ion} = 0 \Rightarrow C_m \frac{dV}{dt} + I_{ion} = 0.$$

Отсюда имеем основное уравнение для моделей электрофизиологии:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -I_{ion}. \quad (7.7)$$

Итак, мы выяснили, как динамика мембранного потенциала зависит от ионного тока через мембрану. Теперь рассмотрим, как можно моделировать ионный ток в зависимости от разности потенциалов на мембране. Одну из возможных моделей дает уравнение ГХК (7.6). Другое, более простое выражение можно получить из закона Ома.

$$I_{ion} = i_{stim} + \sum_S i_S,$$

где i_S – токи ионов натрия, калия и т.д. через мембранные каналы, i_{stim} – ток стимуляции, который в возбудимой клетке инициирует изменение мембранного потенциала.

Напряжение на мембране, обуславливающее ненулевой трансмембранный ток ионов S , создается разностью текущего потенциала на мембране V и потенциала Нернста V_S , создаваемого разностью концентраций иона S по разные стороны мембраны. По закону Ома ток иона S пропорционален напряжению, т.е.:

$$i_S = g_S(V - V_S), \quad (7.8)$$

где $g_S = 1/r$ – проводимость мембраны для данного вида ионов – величина, обратная сопротивлению r . В соответствии с формулой (7.8) положительным будет ток, выводящий положительные заряды из клетки.

Заметим, что проводимость мембраны в общем случае не является константой, а зависит от мембранного потенциала, состояния самого канала, ионных концентраций:

$$g_S = g_S(V, [S]_i, [S]_o, \dots),$$

т.е. g_S меняется со временем. Далее будут рассмотрены модели, описывающие изменение проводимости мембраны.

Обычно задают проводимость на единицу площади поверхности мембраны, имея в виду, что суммарный ток определяется проводимостью одиночного канала и числом каналов, приходящихся на единицу поверхности.

С учетом соотношения (7.8) потенциал Нернста V_S для иона S называют еще и потенциалом реверсии, поскольку при изменении мембранного потенциала с величин, меньших V_S до значений, больших V_S , ионный ток меняет свое направление.

7.2.1. Ионные каналы. Вольт-амперные характеристики с учетом специфики каналов

Ионные каналы (ИК) – особым образом устроенные макромолекулярные поры, через которые осуществляется селективный пассивный транспорт тех или иных ионов. Как мы уже видели, этот транспорт регулируется разностью концентраций ионов данного типа внутри и снаружи клетки, а также мембранным потенциалом.

Разделим вольт-амперные характеристики (ВАХ) клеточной мембраны на 2 составляющие, условно называемые стационарной ВАХ и мгновенной ВАХ.

Каналы могут открываться и закрываться в зависимости от величины мембранного потенциала. Поэтому, если на мембране наблюдается рост тока в ответ на рост потенциала, то это может быть результатом двух различных факторов: 1) рост числа каналов, находящихся в открытом состоянии, даже если ток через отдельный канал не меняется; 2) увеличение тока через отдельный канал, даже если число каналов остается неизменным. Это две крайние ситуации, а в реальности они могут сочетаться.

В рамках физиологически оправданного допущения можно положить, что в ответ на мгновенное изменение разности потенциалов на мембране происходит относительно медленное открытие/закрытие каналов и быстрое изменение тока через отдельные, уже открытые каналы. Такое изменение тока через одиночный канал характеризует его мгновенную ВАХ. Позднее в ответ на изменение потенциала открываются/закрываются каналы и

возникает стационарный ток, в который вносят вклад и уже измененный ток через канал, и новое количество каналов. Такая связь напряжения и тока характеризует стационарную ВАХ. Таким образом, изучая в эксперименте быстрый ответ (мгновенную ВАХ), можно оценить какой тип связи – линейная (омическая) или нелинейная (в силу уравнения ГХК) – больше подходит для данного типа клеток (более подробно см. [56]).

7.2.2. Независимость движения ионов через канал.

Соотношение Уссинга

Является ли движение одного иона через канал независимым от других ионов?

Если да, то говорят, что такой канал отвечает *принципу независимости*. Принцип независимости базируется на предположении, что броуновские столкновения есть некий фактор, в среднем одинаково влияющий на движение каждого иона, т.е. эти столкновения – фактор среды как единого целого, а не взаимного влияния отдельных ионов друг на друга.

Рассмотрим ионный канал. Пусть мембрана разделяет 2 раствора, содержащие ионы вида S с концентрациями c_o (внешняя) и c_i (внутренняя). Если предполагать справедливым выполнение принципа независимости, поток ионов S из любой точки среды должен зависеть только от локальной концентрации S в этой точке (пропорционален этой локальной концентрации). В частности, J_{in} – поток через мембрану снаружи внутрь клетки не зависит от концентрации S внутри клетки, и можно записать следующее соотношение:

$$J_{in} = k_o c_o. \quad (7.9)$$

Аналогично можно записать исходящий из клетки поток в виде:

$$J_{out} = k_i c_i, \quad (7.10)$$

где k_o и k_i – некоторые константы, $k_i \neq k_o$.

Суммарный поток $J_S = k_i c_i - k_o c_o$.

Введем 2 величины: V_S – потенциал Нернста для заданных концентраций c_i и c_o , т.е V_S – это потенциал, при котором $J_S = 0$ и $J_{in} = J_{out}$. Пусть V – заданный мембранный потенциал, при котором $J_S \neq 0$.

Для определенности положим, что S – одновалентный положительный ион. Тогда из формулы потенциала Нернста следует, что:

$$\frac{c_o}{c_i} = \exp \left(\frac{V_S F}{RT} \right).$$

Определим такую гипотетическую внешнюю концентрацию c_o^* , для которой потенциал Нернста оказался бы равен потенциалу V при данной внутренней концентрации c_i . Концентрация c_o^* должна удовлетворять соотношению:

$$\frac{c_o^*}{c_i} = \exp \left(\frac{VF}{RT} \right). \quad (7.11)$$

Кроме того, для c_o^* должно выполняться равенство $k_o c_o^* = k_i c_i$.

Теперь оценим J_{in}/J_{out} при заданных концентрациях c_i и c_o :

$$J_{in}/J_{out} = \frac{k_o c_o}{k_i c_i} = \frac{k_o c_o}{k_o c_o^*} = \frac{c_o}{c_o^*} = \frac{\exp \left(\frac{V_S F}{RT} \right)}{\exp \left(\frac{VF}{RT} \right)}. \quad (7.12)$$

Преобразовывая последнее выражение, получаем *соотношение потоков Уссинга* (Ussing flux ratio):

$$J_{in}/J_{out} = \exp \left(\frac{(V_S - V)F}{RT} \right). \quad (7.13)$$

полученное им в 1949 г.

Кроме того, можно числитель в формуле (7.12) можно, используя соотношение (7.11), записать как c_o/c_i . Тогда отношение Уссинга (ОУ) записывается в другой форме:

$$J_{in}/J_{out} = \frac{c_o}{c_i} \exp \left(\frac{-VF}{RT} \right). \quad (7.14)$$

Из этого выражения следует, что при отсутствии разности потенциалов

на мембране ($V = 0$) отношение потоков совпадает с отношением концентраций иона S по разные стороны мембраны.

Проиллюстрируем применение отношения потоков Уссинга для сравнения натриевых токов, если одну и ту же клетку поместить в раствор с высокой концентрацией Na^+ (используем знак $'$ для обозначения величин при этой концентрации) либо с низкой концентрацией.

Как внутриклеточная концентрация $[Na^+]_i$, так и мембранный потенциал V в обоих случаях предполагаются одинаковыми.

Имеем:

$$I'_{Na}/I_{Na} = \frac{J'_{out} - J'_{in}}{J_{out} - J_{in}}. \quad (7.15)$$

Поскольку $[Na^+]_i$ – взята одинаковой при рассматриваемых $[Na^+]'_o$ и $[Na^+]_o$, то из соотношения (7.9) следует, что $J'_{out} = J_{out}$. В то же время, из соотношения (7.10) следует, что $J'_{in}/J_{in} = [Na^+]'_o/[Na^+]_o$.

Преобразуем выражение в (7.15) и, используем отношение Уссинга (7.14), получим:

$$\begin{aligned} I'_{Na}/I_{Na} &= \frac{J'_{out} - J'_{in}}{J_{out} - J_{in}} = \frac{1 - \frac{J'_{in}}{J'_{out}}}{1 - \frac{J_{in}}{J_{out}}} = \frac{1 - \frac{[Na^+]'_o}{[Na^+]_i} \exp\left(\frac{-VF}{RT}\right)}{1 - \frac{[Na^+]_o}{[Na^+]_i} \exp\left(\frac{-VF}{RT}\right)} = \\ &= \frac{[Na^+]_i - [Na^+]'_o \exp\left(\frac{-VF}{RT}\right)}{[Na^+]_i - [Na^+]_o \exp\left(\frac{-VF}{RT}\right)}. \end{aligned} \quad (7.16)$$

Это соотношение можно использовать для экспериментальной проверки того, удовлетворяют ли натриевые каналы той или иной клетки принципу независимости. Для этого клетку последовательно помещают в растворы с различными концентрациями Na^+ , методом фиксации потенциала (*voltage clamp*) поддерживают постоянную разность потенциалов на мембране, измеряют токи и сравнивают их отношение с (7.16).

Заметим, что в ходе разработки классической модели возбуждения аксона кальмара А. Ходжкин и А. Хаксли проводили тончайшие эксперимен-

ты по оценке натриевых и калиевых токов через мембрану аксона [46]. Для этого они использовали соотношение (7.16) и аналогичное соотношение для калиевых токов (более подробно см. [56]).

7.2.3. Теоретический анализ выбора уравнения для ВАХ ионного тока через канал

Пусть на мембране поддерживается некая разность потенциалов V . Для этого анализа мы вернемся к уравнению электродиффузии ионов через канал, при этом учтем, что электрическое поле не постоянно в разных точках канала, т.е. в общем случае градиент потенциала $\frac{\partial \varphi}{\partial x} \neq const$.

Рассмотрим для простоты случай, когда только положительные одновалентные ионы одного типа S_1 и отрицательные одновалентные ионы второго типа S_2 могут диффундировать через канал. В этом случае кроме уравнения Нернста-Планка для каждого типа ионов понадобится еще одно уравнение для оценки их совместного действия. Мы получим его из уравнения Пуассона.

Для каждого типа ионов уравнение Пуассона выглядит так:

$$\frac{d^2 \varphi_n}{dx^2} = -\frac{\rho_n}{\varepsilon \varepsilon_0}, n = 1, 2,$$

где φ_n – потенциал поля, создаваемого ионами S_n в произвольной точке x канала, ρ_n – объемная плотность заряда ионов S_n , ε_0 – диэлектрическая проницаемость вакуума, ε – относительная диэлектрическая проницаемость среды (в данном случае водного раствора); $\rho_n = q_n c_n$, где c_n – концентрация иона, а q_n – заряд на единицу концентрации этого иона. В случае противоположно-направленных зарядов $q_1 = +q, q_2 = -q$.

Тогда с учетом того, что потенциалы электростатических полей, создаваемых двумя зарядами, складываются, получаем:

$$\frac{d^2 \varphi}{dx^2} = -\frac{q(c_1 - c_2)}{\varepsilon \varepsilon_0}. \quad (7.17)$$

Для каждого типа ионов запишем уравнение Нернста-Планка с учетом

валентности иона:

$$\begin{aligned} J_1 &= -D_1 \left(\frac{dc_1}{dx} + \frac{F}{RT} c_1 \frac{d\varphi}{dx} \right), \\ J_2 &= -D_2 \left(\frac{dc_2}{dx} - \frac{F}{RT} c_2 \frac{d\varphi}{dx} \right) \end{aligned} \quad (7.18)$$

Мы рассматриваем стационарный режим функционирования канала, когда величины (концентрации, потоки, потенциал) не меняются во времени. Поэтому выполняется еще одно условие:

$$J_1 = \text{const}_1, \quad J_2 = \text{const}_2.$$

Наша задача как раз и состоит в отыскании неизвестных величин J_1 и J_2 .

Зададим граничные условия для c_1 , c_2 и φ . Пусть канал имеет длину L и, как обычно, $x = 0$ соответствует внутренней стороне мембраны, а $x = L$ – внешней.

В силу электронейтральности растворов зададим:

$$c_2(0) = c_1(0) = c_i, \quad c_2(L) = c_1(L) = c_o.$$

Значения потенциала на границах определим следующим образом:

$$\varphi(0) = V, \quad \varphi(L) = 0.$$

В общем виде система уравнений (7.17)-(7.18) не может быть решена аналитически. Однако в 1992-1993 годах Изенбергом с коллегами были предложены важные аппроксимации уравнений системы, которые мы далее рассмотрим.

Проведем обезразмеривание системы:

$$\begin{aligned} x^* &= \frac{x}{L}, \\ \varphi^* &= \frac{\varphi F}{RT}, \quad v = \frac{VF}{RT}, \\ \bar{c} &= c_o + c_i, \quad c_1^* = \frac{c_1}{\bar{c}}, \quad c_2^* = \frac{c_2}{\bar{c}}, \\ c_i^* &= \frac{c_i}{\bar{c}}, \quad c_o^* = \frac{c_o}{\bar{c}}. \end{aligned} \quad (7.19)$$

Выразив (7.17) и (7.18) через новые переменные и, опустив *, получим:

$$\begin{aligned} -\bar{J}_1 &= \frac{dc_1}{dx} + c_1 \frac{d\varphi}{dx}, \\ -\bar{J}_2 &= \frac{dc_2}{dx} - c_2 \frac{d\varphi}{dx}, \\ \frac{d^2\varphi}{dx^2} &= -\lambda^2(c_1 - c_2), \end{aligned} \quad (7.20)$$

где $\lambda^2 = \frac{L^2 q F \bar{c}}{\varepsilon \varepsilon_0 R T}$, $\bar{J}_1 = J_1 L / (\bar{c} D_1)$, $\bar{J}_2 = J_2 L / (\bar{c} D_2)$.

Теперь искомыми величинами являются \bar{J}_1 и \bar{J}_2 .

С учетом того, что мы отбросили индекс *, граничные условия записываются следующим образом:

$$c_2(0) = c_1(0) = c_i, \quad c_2(1) = c_1(1) = c_o, \quad \varphi(0) = v, \quad \varphi(L) = 0.$$

Рассмотрим две аппроксимации, учитывающие особенности каналов.

Короткий канал или низкие концентрации ионов

Если канал короткий (т.е. L – малая величина), или концентрации ионов по обе стороны мембраны низкие (т.е. \bar{c} – малая величина), то можно принять, что $\lambda \ll 1$.

Тогда положим $\lambda = 0$, что дает:

$$\frac{d^2\varphi}{dx^2} = 0.$$

Тогда имеем: $\varphi = ax + b$. Учитывая, граничные условия, получим:

$$\frac{d\varphi}{dx} = -v.$$

Т.е. аппроксимация $\lambda \approx 0$ дает постоянный градиент электрического потенциала, т.е. выполнение условия постоянного поля, которое приводит к уравнению ГХК, как мы видели раньше.

Уравнение для c_1 в системе (7.20) принимает вид:

$$\frac{dc_1}{dx} - v c_1 + \bar{J}_1 = 0.$$

Решая линейное ОДУ относительно c_1 получим:

$$c_1 = \frac{\bar{J}_1}{v} + K_1 \exp(vx),$$

где \bar{J}_1 и K_1 находятся из граничных условий $c_1(0) = c_i$ и $c_1(1) = c_o$:

$$\begin{aligned} c_i &= \frac{\bar{J}_1}{v} + K_1, \\ c_o &= \frac{\bar{J}_1}{v} + K_1 e^v, \end{aligned}$$

откуда получим:

$$\bar{J}_1 = v \frac{c_i - c_o e^{-v}}{1 - e^{-v}}.$$

Если вернуться к размерным величинам и перейти к электрическому току (с учетом того, что $z = 1$, то, как и ожидалось, получим в точности уравнение ГХК:

$$I_1 = F J_1 = \frac{D_1}{L} \frac{F^2}{RT} V \frac{c_i - c_o \exp\left(-\frac{VF}{RT}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{FV}{RT}\right)}.$$

Так же можно получить выражение для ионов S_2 , но с учетом $z = -1$.

Таким образом, уравнение ГХК применимо для описания ВАХ ионных токов через канал в случае короткого канала и/или низких концентраций иона.

Длинный канал

Обозначим $\eta = 1/\lambda$ и перепишем уравнение (7.20) с параметром η :

$$\begin{aligned} -\eta^2 \frac{d^2 \varphi}{dx^2} &= c_1 - c_2, \\ -\bar{J}_1 &= \frac{dc_1}{dx} + c_1 \frac{d\varphi}{dx}, \\ -\bar{J}_2 &= \frac{dc_2}{dx} - c_2 \frac{d\varphi}{dx}. \end{aligned} \tag{7.21}$$

Для длинного канала $\eta \approx 0$. Вообще говоря, исходя из этого могло бы быть некорректным прямо перейти к псевдостационарному уравнению

$c_1 - c_2 = 0$, поскольку замена левой части уравнения на ноль понижает порядок системы и граничные условия, заданные для системы ОДУ второго порядка могут не выполняться для редуцированной системы. Однако в нашей системе при заданных граничных условиях такая редукция допустима.

В результате получаем, что $c_1(x) = c_2(x)$ во всех точках канала.

С учетом этого имеем:

$$2 \frac{dc_1}{dx} = -\bar{J}_1 - \bar{J}_2.$$

Поскольку оба потока постоянны, $\frac{dc_1}{dx} = \text{const}$, следовательно $c_1(x)$ – линейная функция. С учетом граничных условий имеем:

$$c_1 = c_2 = c_i + (c_o - c_i)x. \quad (7.22)$$

Далее, вычтем третье уравнение из второго в системе (7.21). Получим:

$$2c_1 \frac{d\varphi}{dx} = 2\bar{J}. \quad (7.23)$$

где $2\bar{J} = \bar{J}_2 - \bar{J}_1$.

Отсюда с учетом (7.22) получаем решение для φ :

$$\varphi = \frac{\bar{J}}{c_o - c_i} \ln (c_i + (c_o - c_i)x) + K, \quad (7.24)$$

где \bar{J} и K , как и в случае первой аппроксимации, находятся из граничных условий для φ .

Получим:

$$\varphi = -\frac{v}{v_1} \ln \left(\frac{c_i}{c_o} + \left(1 - \frac{c_i}{c_o}\right)x \right),$$

где $v_1 = \ln \left(\frac{c_o}{c_i} \right)$ – потенциал Нернста для обезразмеренных величин.

Подставив найденные величины и их производные в уравнение для \bar{J}_1 в

системе (7.21), получим:

$$\bar{J}_1 = \frac{c_o - c_i}{v_1}(v - v_1).$$

Видно, что мы получили линейную зависимость ионного потока от мембранного потенциала. Отсюда, перейдя к размерным величинам и домножая на постоянную Фарадея, мы получим линейную зависимость для ВАХ канала.

Итак, для протяженных каналов более корректной аппроксимацией ВАХ является линейная.

В обоих рассмотренных случаях концентрация с монотонно возрастает в толще канала, а значение φ потенциала, напротив монотонно убывает в направлении «изнутри-наружу». Однако в первом случае линейной является зависимость $\varphi(x)$, а во втором – зависимость $c(x)$.

Отметим, что при анализе ВАХ мы использовали особенности электродиффузии внутри канала в толще мембраны. Однако сами полученные зависимости (и линейная, и ГХК) определяют ток сквозь мембрану уже как функцию состояний (потенциалов и концентраций) только на границе мембраны. Это позволяет во многих более сложных интегративных моделях клеточного гомеостаза пренебрегать толщиной мембраны и процессами, происходящими в ее толще, рассматривая ее упрощенно как тонкую (не имеющую поперечного размера) пленку, отделяющую клетку от внешней среды.

7.3. Потенциал действия. Модель Ходжкина-Хаксли

7.3.1. Потенциал действия

Мы уже видели, что мембранный потенциал – один из ключевых участников клеточного гомеостаза, который участвует в организации потоков ионов через мембрану. В ряде случаев наиболее важная регуляторная роль мембранного потенциала – передача сигнала от клетки к клетке или внутрь клетки.

В настоящее время общепризнанно, что распространение возбуждения в нервных и мышечных волокнах обусловлено электрическим током. Возбужденный участок волокна становится генератором электрического тока. Этот ток, возбуждая в соседние участки, заставляет их в свою очередь генерировать ток, который переводит в возбужденное состояние новые участки и т.д.

В возбудимых клетках разность потенциалов на мембране может существенно изменяться в ответ на действие электрического тока. Это изменение разности потенциалов называется *потенциалом действия* (ПД). Во всех возбудимых тканях потенциалы действия обеспечивают сигнализирующую функцию и во многих клетках функцию управления – например, в клетках сердечной мышцы. В клетках рабочего миокарда ПД участвует в регуляции силы сокращения, служит в качестве триггера – запускает функцию сокращения.

Будем возбуждать клетку электрическим током в виде кратковременного электрического импульса.

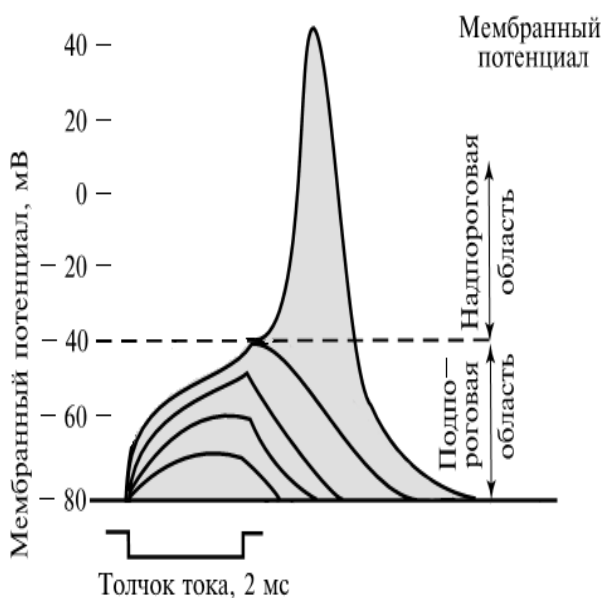


Рис. 7.3. Влияние амплитуды стимулирующего тока на мембранный потенциал. Генерация ПД при надпороговой стимуляции

При определенных значениях электрического импульса величина изме-

нения разности потенциалов на мембране будет тем больше, чем больше амплитуда импульса. Такие ответы – пропорциональные импульсу и затухающие, – называются градуальными ответами. Если мы будем дальше увеличивать амплитуду импульса, то, начиная с некоторой величины мембранного потенциала, возникает ответ по принципу «все-или-ничего», т.е. практически независимо от амплитуды стимула формируется характерный по форме и длительности ПД, а критический уровень изменения разности потенциалов, выше которого запускается этот ответ, называется пороговым уровнем. Малые изменения ПД к окрестности порогового уровня приводят к большим ответам (рис. 7.3).

Согласно закону «всё-или-ничего» мембрана клетки возбудимой ткани либо практически не отвечает на стимул, либо отвечает с максимально возможной реакцией. То есть, если стимул слишком слаб и порог не достигнут, потенциал действия не возникает; а если порог достигнут, то возникнет потенциал действия, амплитуда которого практически не зависит от величины стимулирующего тока. Это не означает, что амплитуда потенциала действия всегда одинакова – один и тот же участок мембраны, находясь в разных состояниях, может генерировать потенциалы действия разной амплитуды.

Во время развития потенциала действия наблюдается быстрое смещение значений мембранного потенциала клеток от отрицательных значений, соответствующих потенциалу покоя клетки $-70 - -90$ мВ, до положительных значений $+40 - +50$ мВ (деполяризация) и последующий возврат к прежним значениям (реполяризация). Реверсия мембранного потенциала во время развития импульса вызвана резким изменением проницаемостей мембраны для ионов.

В различных возбудимых тканях и амплитуда, и длительность, и конфигурация ПД могут существенно различаться, хотя механизм остается сходным (рис. 7.4). В разных тканях вклады различных токов в формирование ПД могут быть разными.

Рассмотрим ПД, характерный для миокарда желудочка сердца (рис.

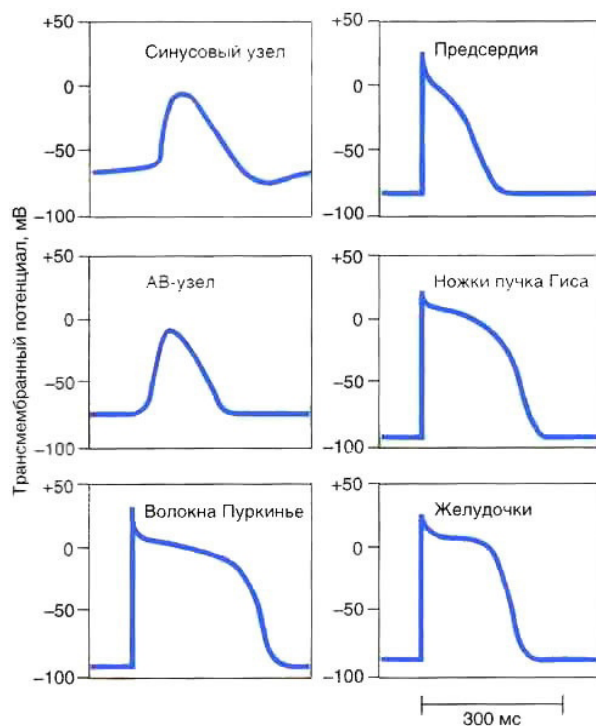


Рис. 7.4. Потенциалы действия в различных сердечных клетках млекопитающих

7.5).

Как мы уже ранее выяснили, в покое проницаемость мембраны для ионов K^+ - наибольшая по сравнению с проницаемостью к другим ионам. Поэтому потенциал покоя всех клеток близок по значению к равновесному потенциалу Нернста для ионов K^+ . Во время возбуждения происходит последовательное чередование фаз, когда проницаемость мембраны меняется в пользу тех или других ионов, что активирует соответствующие ионные токи через ионные каналы и другие транспортные механизмы, направленные внутрь или наружу клетки. Эти токи влекут изменение заряда на мембране и динамическое изменение мембранного потенциала. Это, в свою очередь, снова меняет проводимость мембраны к ионам того или иного вида, и таким образом реализуется регенеративный процесс изменения мембранного потенциала во времени, т.е. формируется ПД.

В частности, у ПД кардиомиоцитов рабочего миокарда желудочков выделяют пять характерных фаз.

Фаза 0. Начальная фаза возбуждения – *фаза быстрой деполяризации*, т.е. достижение нулевой разности потенциалов, а затем смена поляри-

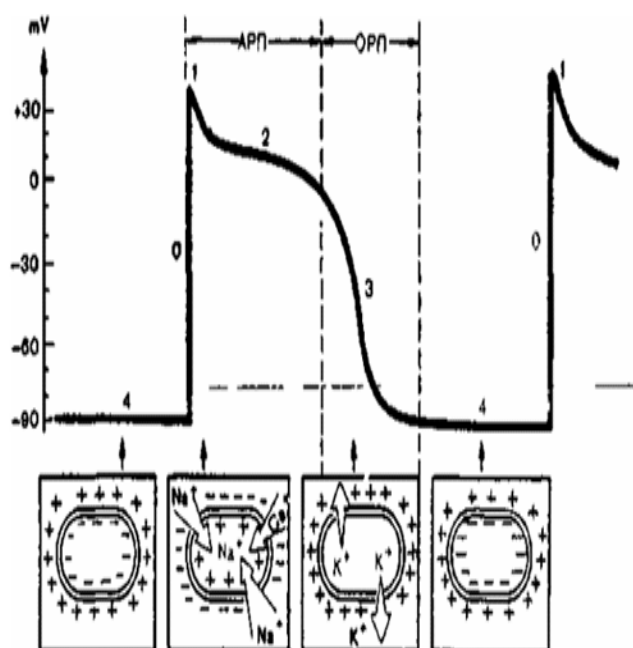


Рис. 7.5. Потенциал действия кардиомиоцитов желудочков сердца млекопитающих. АРП и ОРП - абсолютный и относительный рефрактерный периоды сердечного цикла

зации мембраны. После достижения порогового уровня мембранного потенциала резко увеличивается проницаемость мембраны клетки для ионов Na^+ , которые быстро устремляются внутрь клетки (быстрый натриевый ток). При этом, меняется заряд мембраны: внутренняя поверхность мембраны становится положительной, а наружная - отрицательной. Величина мембранного потенциала изменяется от -90 mV до +30 mV, т.е. происходит реверсия заряда - перезарядка мембраны. Продолжительность этой фазы составляет от долей миллисекунд до нескольких миллисекунд в различных типов возбудимых клеток, но не превышает 10 мс. *Овершут* – это часть ПД выше нулевого уровня. Во время овершута мембрана оказывается заряженной положительно.

Фаза 1. Фаза начальной быстрой реполяризации. Реполяризация – восстановление поляризации, т.е. исходной отрицательной разности потенциалов. Как только величина потенциала достигает примерно +30 mV, проницаемость мембраны для ионов Na^+ существенно снижается, а для ионов K^+ - начинает постепенно увеличиваться, что обуславливает выход положительных зарядов из клетки и снижение мембранного потенциала в

сторону нулевого значения разности потенциалов.

Фаза 2. Фаза плато. В течение этой фазы величина потенциал снижается, но медленно, так что на кривой ПД наблюдается своеобразное плато. Эта фаза обусловлена одновременным противоположно направленным входом ионов Ca^{2+} через кальциевые каналы и выходом ионов K^{+} через калиевые каналы. Продолжительность этой фазы достаточно велика и может составлять 100-200 мс. В течение фазы 2 мышечная клетка остается в возбужденном состоянии.

Фаза 3. Фаза поздней быстрой реполяризации. К началу фазы 3 резко практически до исходного уровня уменьшается проницаемость клеточной мембраны для Na^{+} и Ca^{2+} , и значительно возрастает проницаемость для K^{+} . Поэтому вновь начинает преобладать выведение ионов K^{+} наружу из клетки, что приводит к восстановлению прежней поляризации клеточной мембраны, имевшей место в состоянии покоя: наружная ее поверхность вновь оказывается заряженной положительно, а внутренняя поверхность - отрицательно. Мембранный потенциал достигает величины потенциала покоя.

Фаза 4. Потенциал покоя. Во время этой фазы происходит восстановление исходных концентраций ионов внутри и вне клетки благодаря действию различных механизмов активного транспорта, в частности, $Na^{+} - K^{+}$ -насоса (см. раздел 6). При этом мембранный потенциал мышечных клеток остается на уровне потенциала покоя, т.е. около -90 mV.

В некоторых клетках достижение порогового значения потенциала (а, следовательно, и генерация возбуждения) может происходить полностью за счет внутриклеточных процессов. В этом случае говорят, что клетка обладает спонтанной активностью.

В клетках сердечной мышцы есть специализированные клетки водителей ритма - синусного узла, которые обладают авторитмической активностью, т.е. генерируют периодические колебания мембранного потенциала и тем самым задают ритм сердцебиения (рис. 7.4). В клетках синусного узла во время фазы 4 происходит спонтанная диастолическая деполяризация

мембраны, в результате которой достигается пороговый уровень потенциала, вслед за чем происходит генерация очередного импульса.

Сигнальная роль потенциала действия имеет 2 стороны. Во-первых, ПД, как правило, активирует основную функцию самой клетки (например, возбуждает мышечную клетку к сокращению). Во-вторых, он позволяет возбуждению передаваться вдоль ткани: от одной клетки к другой (инициируя процесс возбуждения как процесс горения).

Изучение генерации и распространения ПД является одной из центральных задач как экспериментальной, так и теоретической электрофизиологии в течение более чем 100 лет.

7.3.2. Модель Ходжкина—Хаксли

Алан Ходжкин и Эндрю Хаксли предложили математическое описание экспериментально наблюдаемой кинетики изменений натриевой и калиевой проводимости мембраны при различных смещениях мембранного потенциала и построили модель генерации ПД в нервных клетках, ставшую классической моделью в электрофизиологии. Они проводили свои работы на гигантском аксоне нейрона кальмара - нервных волокнах, идущих к мышцам кальмара, которые достигают в диаметре 1 миллиметра (это в 50 раз больше диаметра самого толстого аксона млекопитающих, а по площади поперечного сечения аксоны кальмара превосходят аксоны млекопитающих в 2500 раз). В 1963 году «за открытия, касающиеся ионных механизмов возбуждения и торможения в периферических и центральных участках нервных клеток», включая разработку математической модели, ими совместно с Джоном Эклсом была получена Нобелевская премия по физиологии и медицине.

Значение модели Ходжкина-Хаксли (МХХ) выходит далеко за пределы собственно изучения ПД гигантского аксона кальмара. Ее идеи – основа моделей различных возбудимых клеток, в частности, моделей электрической активности клеток сердечной мышцы.

Перейдем к рассмотрению МХХ. Основные ионные каналы в гигант-

ском аксоне кальмара, определяющие поведение мембранного потенциала, - натриевые и калиевые. Хотя имеются и другие токи, прежде всего, обусловленный ионами хлора, они в совокупности малы и в МХХ объединены в общий ток утечки.

Аналогично рассмотренной ранее электрической схеме мембраны с одним сопротивлением (см. предыдущий параграф), в электрической схеме МХХ рассматривается несколько сопротивлений, через которые может течь калиевый и натриевый токи, а также обобщенный ток утечки (рис. 7.6). Для этой схемы записывается уравнение, в котором скорость изме-

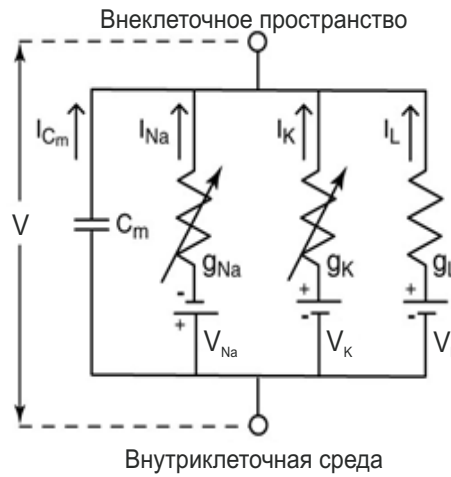


Рис. 7.6. Электрическая схема модели Ходжкина-Хаксли

нения мембранного потенциала определяется суммой всех ионных токов через мембрану:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -(g_{Na}(V - V_{Na}) + g_K(V - V_K) + g_L(V - V_L) + i_{stim}), \quad (7.25)$$

здесь, как и раньше, $V = V_i - V_e$ - разность потенциалов на внутренней и внешней поверхности мембраны, C_m - емкость мембраны, g_{Na} , V_{Na} , g_K , V_K - проводимости мембраны и равновесные потенциалы Нернста для ионов Na^+ и K^+ , а g_L и V_L - обобщенная проводимость и равновесный потенциал для всех остальных ионных токов через мембрану, т.е. параметры обобщенного тока утечки, $i_{stim} < 0$ - стимуляционный ток, как правило, достаточно интенсивный, но кратковременный, который необходим, чтобы довести мембранный потенциал до порогового уровня.

Измерено, что в течение развития ПД концентрации переносимых через мембрану ионов малы - порядка единиц $pmole/cm^2$. Поэтому наружные и внутренние концентрации ионов, а, следовательно, и соответствующие потенциалы реверсии в модели аксона кальмара можно считать постоянными (это часто не так для других типов возбудимых клеток, например, для кардиомиоцитов позвоночных животных).

Уравнение (7.29) можно переписать в эквивалентном виде:

$$C_m \frac{dV}{dt} = -g(V - V_{eq}) - i_{stim}, \quad (7.26)$$

где g - эффективная проводимость мембраны $g = g_{Na} + g_K + g_L$, V_{eq} - равновесный потенциал $V_{eq} = (g_{Na}V_{Na} + g_KV_K + g_LV_L)/g$.

Если бы проводимости g_{Na} , g_K , g_L - имели постоянные значения, то линейное относительно V уравнение (7.26) описывало бы процесс экспоненциальной релаксации мембранного потенциала к равновесному значению V_{eq} , причем с достаточно большой скоростью, поскольку константа времени этого процесса $\tau = C_m/g$ при значениях проводимости в состоянии покоя имеет порядок 1 мс.

Именно так происходит при малых стимуляционных воздействиях, когда возмущенное значение потенциала не превышает порогового уровня. В этом случае в ответ на стимулирующее возмущение потенциал очень быстро возвращается к исходному значению и потенциала покоя.

В случае, когда возмущенное значение потенциала преодолевает пороговый уровень, мембранный потенциал начинает изменяться практически независимо от стимула по собственному сценарию. Единственным разумным объяснением этому явлению в рамках уравнения (7.29) является предположение, что проводимости для ионных токов - не есть постоянные величины, но сами зависят от мембранного потенциала.

А. Ходжкин и Э. Хаксли сумели измерить ионные токи при разных значениях постоянного мембранного потенциала и сумели определить вид зависимостей от потенциала соответствующих проводимостей в уравнении

(7.29). Эти результаты обобщены в их классической работе 1952 г. [46].

Ионные токи в МХХ Как зависят проводимости мембраны для ионов натрия и калия от величины мембранного потенциала и времени?

Существует экспериментальный метод фиксации напряжения на мембране (*voltage clamp*). Он обеспечивает создание на мембране фиксированной разности потенциалов. Существуют вещества, которые избирательно блокируют либо натриевые каналы, либо калиевые каналы. Кроме этого, можно использовать либо безнатриевые, либо бескалиевые растворы, чтобы исключить токи через соответствующие каналы. Таким образом, можно исследовать отдельно натриевый или калиевый токи, их кинетику в зависимости от мембранного потенциала.

Было показано, что при возникновении потенциала действия существенно изменяется проводимость мембраны и для натрия и для калия.

На рисунке 7.7 показано семейство кривых, показывающих зависимость проводимости от времени после ступенчатого изменения напряжения на мембране на различную величину. Как видно, при ступенчатой деполяризации мембраны натриевая проводимость быстро нарастает, а затем падает до исходного уровня. Рост проводимости для калия имеет вид S-образной кривой, которая выходит на постоянный уровень, зависящий от амплитуды изменения мембранного потенциала.

Таким образом, экспериментальные данные ясно показывают, что проводимости для ионов натрия и калия – есть функции мембранного потенциала и времени.

Было предположено, что каждая из проводимостей мембраны и для ионов Na^+ и для K^+ регулируется некоторыми управляющими частицами, перемещающимися в мембране при изменении электрического поля. Канал находится в открытом состоянии и способен пропускать ионы только в том случае, когда все управляющие частицы находятся в определенном состоянии. Вероятность обнаружить каждую из управляющих частиц в требуемом для открытия канала положении зависит от мембранного потенциала и изменяется во времени в соответствии с собственным кинетическим уравне-

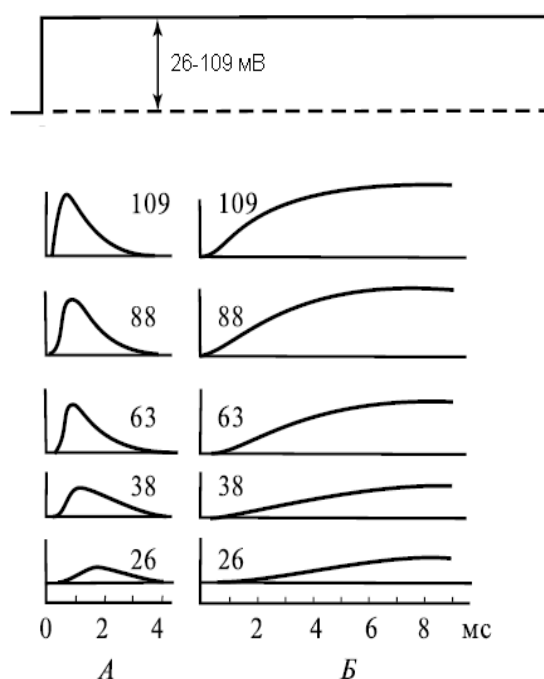


Рис. 7.7. Изменения натриевой (А) и калиевой (Б) проводимости мембраны аксона кальмара при различных смещениях мембранного потенциала от уровня потенциала покоя. Цифрами обозначена величина деполяризации

нием. В результате в уравнении для соответствующего тока присутствует вероятность одновременного нахождения совокупности частиц в нужном состоянии, и в предположении их независимости эта вероятность равна произведению вероятностей для каждой частицы занять требуемое положение, что приводит к степенным функциям и делает зависимость тока от потенциала существенно нелинейной. В частности, в МХХ было предположено, что для калиевого канала 4 n -частицы управляют открытием канала, а для натриевого – 3 активирующие m -частицы и одна инактивирующая h -частица.

Описание калиевой проводимости в МХХ

В МХХ было предположено, что калиевая проводимость есть степенная функция вида:

$$g_K = \overline{g_K} n^4, \quad (7.27)$$

где $\overline{g_K}$ - максимальная проводимость канала - константа, а n - можно интерпретировать, как вероятность некой управляющей частицы находиться

в состоянии, обеспечивающем открытие калиевого канала. Поэтому n называется калиевой активационной переменной.

При этом величина n (или доля частиц, занимающих требуемое состояние) зависит от мембранного потенциала и удовлетворяет линейному кинетическому уравнению:

$$\frac{dn}{dt} = -\frac{n - n_{\infty}(v)}{\tau(v)}, \quad (7.28)$$

где $n_{\infty}(v)$ и $\tau(v)$ - есть функции зависящие от величины $v = V - V_{eq}$, т.е. от отклонения потенциала V от некоторого равновесного потенциала V_{eq} , например, потенциала покоя или потенциала Нернста для ионов калия, или потенциала, выбранного в качестве исходного в экспериментах со ступенчатым изменением потенциала, показанных на рисунке 7.7.

Напомним, что в этом уравнении при фиксированном значении потенциала v $n_{\infty}(v)$ - есть стационарное значение, к которому стремится n с константой времени $\tau(v)$ при любом начальном значении $n_0 = n(0)$. Переход в стационарное состояние происходит тем быстрее, чем меньше величина τ (см. рис. 7.8, левая панель).

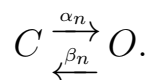
Напомним также, что уравнение (7.28) можно также переписать в эквивалентной форме:

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(v)(1 - n) - \beta_n(v)n, \quad (7.29)$$

где параметры связаны следующими соотношениями:

$$n_{\infty} = \frac{\alpha_n}{\alpha_n + \beta_n}, \quad \tau = \frac{1}{\alpha_n + \beta_n}.$$

Кинетические параметры α_n, β_n - есть потенциал-зависимые константы скоростей переходов активационной частицы из состояния C , соответствующего закрытому состоянию канала, в состояние O , допускающее открытие канала (см. рис. 7.8, правая панель):



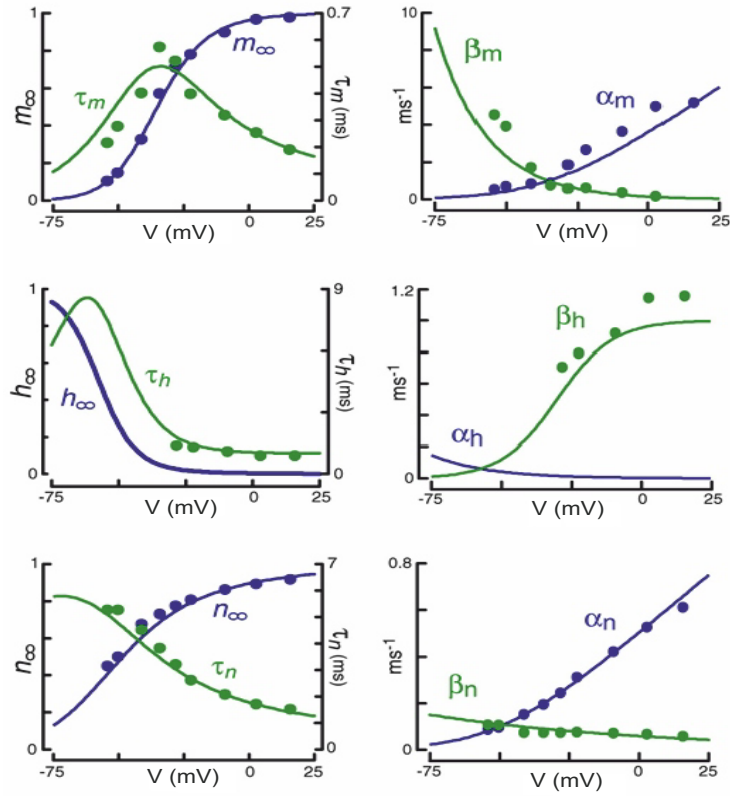


Рис. 7.8. Стационарные зависимости параметров проводимости каналов от потенциала. Левая панель: $m_{\infty}(v)$, $h_{\infty}(v)$, $n_{\infty}(v)$ - стационарные значения, к которым стремятся активационные переменные m , n и инактивационная переменная h с соответствующими константами времени $\tau_{m,h,n}(v)$. Правая панель: потенциал-зависимые константы $\alpha(v)$, $\beta(v)$ скоростей переходов активационной частицы из состояния, соответствующего закрытому состоянию канала, в состояние, допускающее открытие канала

Заметим, что выбор 4-ой степени в формуле (7.27) для калиевой проводимости МХХ не был обусловлен физиологическими причинами, например, данными о наличии именно 4-х управляющих частиц, отвечающих за открытие канала. Эта степень была найдена авторами, чтобы воспроизвести в модели сигмоидальный характер нарастания во времени проводимости при ступенчатом повышении потенциала и экспоненциальный характер возврата проводимости к исходному уровню при обратном скачке потенциала к исходному уровню в соответствии с экспериментальными данными.

Пусть рассматривается ответ на скачок потенциала с $V_{eq} = 0$ до некоторого значения $V = v_0$, который затем удерживается постоянным. Положим также для простоты, что $n_0 = 0$. Тогда в соответствии с уравнением (7.28)

изменение во времени n описывается следующей функцией:

$$n = n_{\infty}(v_0)(1 - e^{-\frac{t}{\tau(v_0)}}).$$

Это экспоненциальная функция с монотонно убывающим наклоном, а n^4 обеспечивает сигмоидальный характер кривой.

Параметры $n_{\infty}(v)$ и $\tau(v)$ были оценены при каждом фиксированном v_k из соответствующих экспериментов, показанных на рисунке 7.7, таким образом были получены дискретные наборы точек $v_k - n_{\infty}(v_k)$ и $v_k - \tau(v_k)$, для которых потом были найдены наиболее подходящие непрерывные аппроксимирующие функции (см. рис. 7.8, левая панель).

7.3.3. Описание натриевой проводимости в МХХ

Из экспериментальной записи, представленной на рисунке 7.7 видно, что в ответ на положительный скачок потенциала имеет место сначала довольно быстрое нарастание проводимости, а затем ее уменьшение. Это наводит на мысль, что в работе натриевого канала участвуют не только активационные переменные, открывающие канал, но и инактивационные переменные, которые переводят его в закрытое состояние.

Натриевая проводимость была представлена в МХХ в следующей форме:

$$g_{Na} = \overline{g_{Na}} m^3 h, \quad (7.30)$$

где $\overline{g_{Na}}$ - максимальная проводимость, - константа, m - вероятность того, что активационная частица находится в состоянии, соответствующем открытому каналу, h - вероятность того, что инактивационная частица не блокирует канал (инактивационная переменная).

В покое m близка к нулю и быстро нарастает при отклонении мембранного потенциала от потенциала покоя, а h , напротив, близка к единице в покое, а при изменении потенциала ее величина уменьшается (т.е. канал переходит в инактивированное состояние).

Для управляющих переменных записываются соответствующие кинети-

ческие уравнения:

$$\begin{aligned}\frac{dm}{dt} &= \alpha_m(v)(1 - m) - \beta_m(v)m, \\ \frac{dh}{dt} &= \alpha_h(v)(1 - h) - \beta_h(v)h,\end{aligned}\tag{7.31}$$

где $\alpha_m, \beta_m, \alpha_h, \beta_h$ – функции мембранного потенциала (см. рис. 7.8, правая панель).

Собрав вместе все уравнения для параметров проводимости каналов и задав постоянную проводимость для тока утечки $g_L = \text{const}$, получаем полную систему МХХ со следующим уравнением для мембранного потенциала v :

$$\begin{aligned}C_m \frac{dv}{dt} &= -(\overline{g_{Na}}m^3h(v - v_{Na}) + \overline{g_K}n^4(v - v_K) + g_L(v - v_L) + i_{stim}), \\ I_{Na} &= \overline{g_{Na}}m^3h(v - v_{Na}), \quad I_K = \overline{g_K}n^4(v - v_K), \quad I_L = g_L(v - v_L)\end{aligned}\tag{7.32}$$

где $v = V - V_{eq}$, $v_{Na} = V_K - V_{eq}$, $v_K = V_K - V_{eq}$, $v_L = V_L - V_{eq}$ – отклонения потенциала V и потенциалов Нернста V_K, V_{Na}, V_L от потенциала равновесия V_{eq} , а кинетические уравнения для переменных m, h и n представлены выше (см. формулы (7.29), (7.3.3)).

7.3.4. Качественный анализ МХХ

Изложим некоторые результаты, вытекающие из анализа МХХ. При малых и кратковременных (подпороговых) токах стимуляции возмущенный мембранный потенциал быстро релаксирует к потенциалу равновесия $v_{eq} = V(0) - V_{eq} = 0$, значение которого чуть выше величины $v_K = V_K - V_{eq} = -12mV$. Это происходит в модели также, как и в натурном эксперименте на аксоне кальмара.

Заметим, что $v_K < v_L < v_{Na}$, что приводит к выполнению соотношения: $v_K < v < v_{Na}$, т.е. значение мембранного потенциала лежит всегда между потенциалами Нернста для K^+ и Na^+ . Поэтому $I_{Na} < 0$ всегда направлен внутрь клетки, а $I_K > 0$ – наружу. Если бы g_K и g_{Na} были константами, то возвращение к состоянию равновесия ($v_{eq} = 0$) происходило бы после

прекращения стимулирующего тока с достаточно большой скоростью.

Реальная последовательность событий в ответ на надпороговый определяется динамикой величин m , h и n (рис. 7.9). Из рисунка 7.8 видно, что $\tau_m(v)$ при любом v намного меньше, чем $\tau_h(v)$ и $\tau_n(v)$. Поэтому dm/dt меняется гораздо быстрее в ответ на изменение v , чем dn/dt и dh/dt (рис. 7.9). При каждом текущем значении v фазовая переменная m достаточно быстро стремится к стационарному значению $m_\infty(v)$ с характерным временем $\tau_m(v)$, а зависимость $m_\infty(v)$ является возрастающей с ростом v (рис. 7.8).

Итак, в первую фазу формирования ПД происходит следующая цепь событий:

стимул \longrightarrow рост v (в силу выполнения уравнения (7.32)) \longrightarrow рост $m \longrightarrow$ рост g_{Na} и соответствующего $I_{Na} \longrightarrow$ дальнейший рост v (рис. 7.9, 7.10).

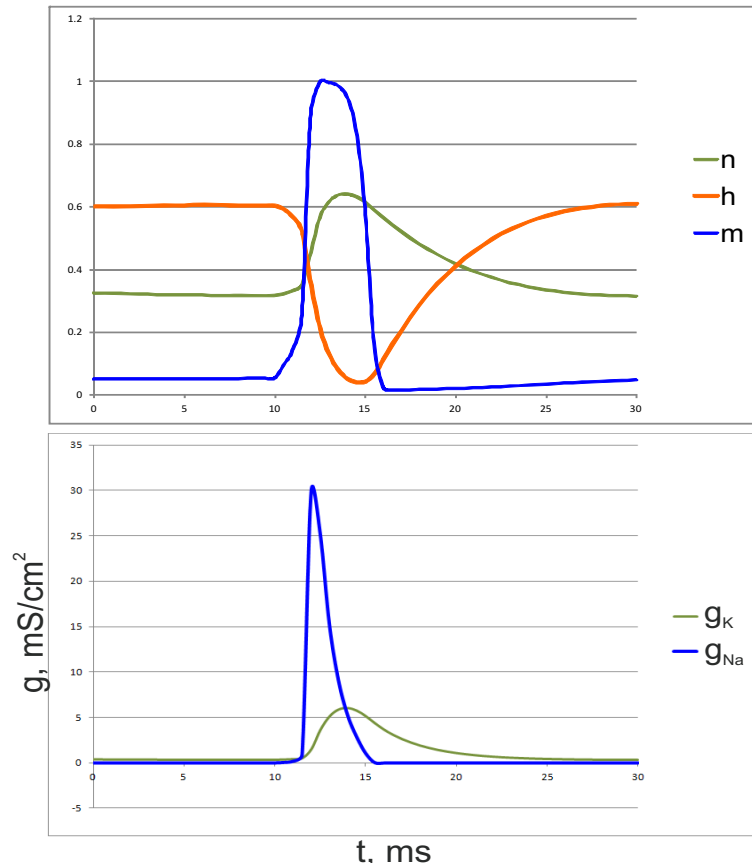


Рис. 7.9. Изменение фазовых переменных m , h , n и проводимостей каналов g_{Na} , g_K в МХХ

Если бы только m зависела от v , то потенциал постепенно вышел бы на

стационарное значение, близкое к v_{Na} (т.к. $m_{\infty}(v)$ имеет горизонтальную асимптоту).

Однако, I_{Na} зависит также от величины инактивационной переменной h . В состоянии покоя ($v=0$) инактивационная компонента $h_{\infty}(0) = 0.6$. Когда v увеличивается, то $h_{\infty}(v) \rightarrow 0$ (рис. 7.8), следовательно и $h(v) \rightarrow 0$ (рис. 7.9). Однако $\tau_h(v) \gg \tau_m(v)$, поэтому приближение h к соответствующим значениям h_{∞} происходит намного медленнее, чем стремление m к m_{∞} (рис. 7.8). В результате имеется значительная задержка между временем, когда m , возрастая, вызывает рост натриевого тока и последующей стадией, когда натриевый ток начинает уменьшаться за счет уменьшения h (рис. 7.9, 7.10).

Таким образом, сначала I_{Na} растет, за ним растет потенциал, и только через какое-то время I_{Na} начинает падать, так что дальнейшее изменение потенциала начинает в значительной степени зависеть от соотношения внутри-направленного I_{Na} и противоположного наружу-направленного I_K . При этом стационарные характеристики калиевой проводимости $n_{\infty}(v)$ и $\tau_n(v)$ таковы, что I_K активируется за счет роста проводимости g_K примерно в ту же фазу, когда инактивируется I_{Na} (рис. 7.9).

Преобладание I_K приводит к падению потенциала v , причем даже ниже ПП ($v = 0$) в направлении $v = v_K$ (рис. 7.10). Наконец, когда v становится близким к v_K , то I_K становится достаточно малыми, что вместе с внутри-направленным током утечки (т.к. $v < v_L$, $I_L < 0$) приводит к возвращению потенциала к значению ПП (рис. 7.10) и последующему установлению всех исходных значений параметров проводимостей каналов. В частности, происходит процесс восстановления натриевых каналов от инактивации (рост величины h), что через некоторое время делает мембрану вновь восприимчивой к следующему стимулу (рис. 7.9).

Итак, можно выделить 4 фазы ПД (рис. 7.10):

1. быстрый рост v в ответ на стимул - деполяризация мембраны,
2. возбужденное состояние ($v > 0$),

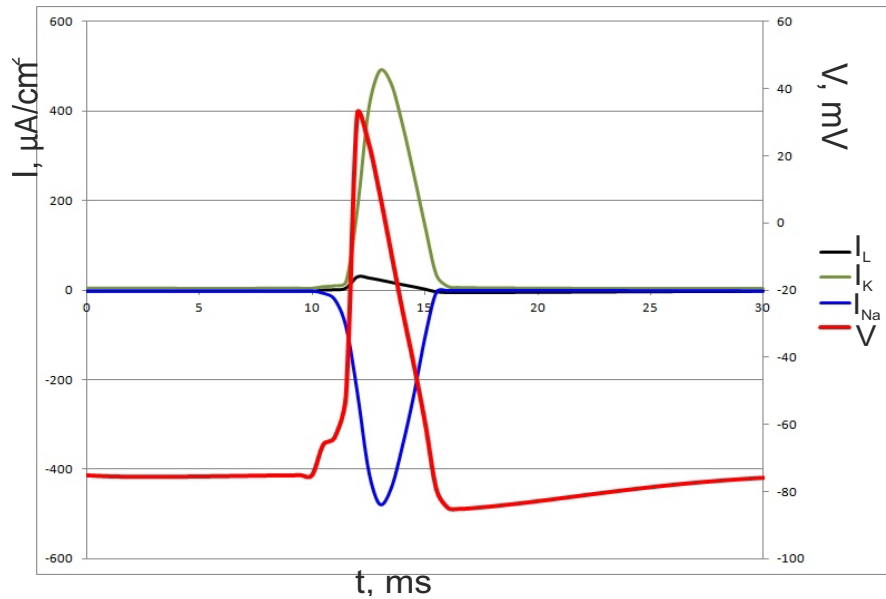


Рис. 7.10. Генерация нервного импульса. Формирование потенциала действия V и изменение во времени токов через натриевые и калиевые каналы I_{Na} , I_K и тока утечки I_L

3. рефрактерность (некоторый период невозбудимости, в течение которого мембрану практически невозможно возбудить новым стимулом),
4. восстановление потенциала до ПП.

Порог стимуляции. Изменение потенциала мембраны в ответ на стимул приводит к возбуждению нервного волокна и возникновению в нем импульса лишь в том случае, когда это начальное изменение превышает пороговую величину. Слишком малые «подпороговые» изменения потенциала затухают, не порождая импульса.

Как объясняется наличие порога у нервного волокна в рамках МХХ? Если изменение потенциала мало, то вызванный этим изменением I_{Na} оказывается меньше I_K , и суммарный ток возвращает потенциал мембраны к исходному значению. Если же изменение мембранного потенциала превосходит некоторое определенное значение, то I_{Na} становится больше I_K . При этом деполяризация волокна увеличивается, что приводит к дальнейшему увеличению I_{Na} , и т.д. Происходит регенеративное развитие импульса. Таким образом, значение мембранного потенциала, при котором $I_{Na} = I_K$, и есть порог возбуждения.

Рефрактерность. Наличие у всех нервных и мышечных волокон интервала рефрактерности, т.е. некоторого периода невозбудимости, наступающего после прохождения импульса, тоже естественно вытекает из рассматриваемой модели. Как мы уже видели, через некоторое время после возникновения в волокне импульса величина h становится мала, а величина n возрастает. В этих условиях при любом увеличении мембранного потенциала соответствующий I_K будет превышать I_{Na} , то есть любая стимуляция будет подпороговой. В этом и состоит явление рефрактерности.

Существует несколько путей, когда система Ходжкина-Хаксли может перейти в режим осцилляций (автоколебаний).

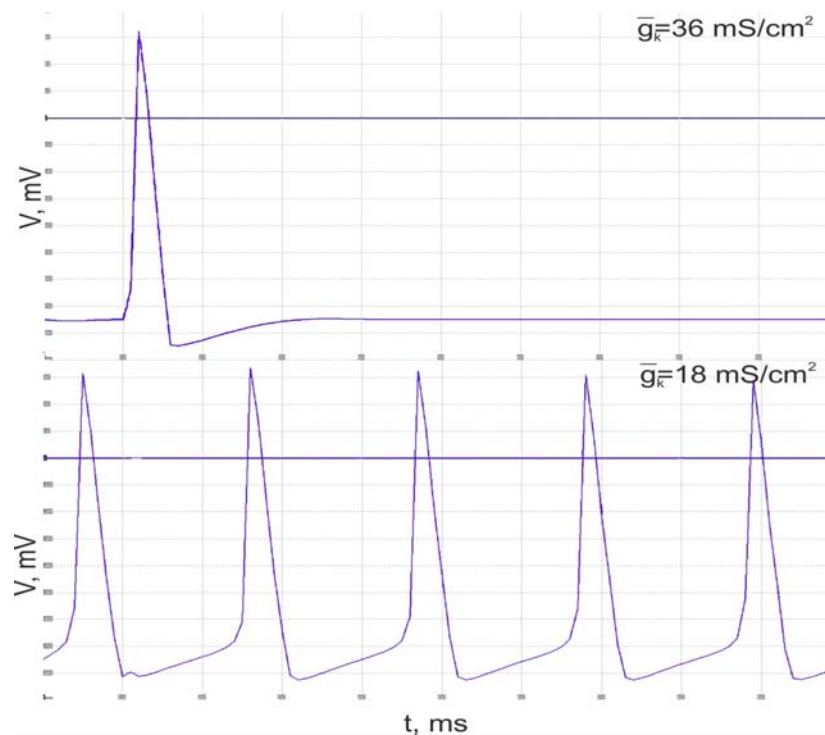


Рис. 7.11. Уменьшение максимальной проводимости для ионов калия \bar{g}_K вызывает периодические ПД, т.е. авто-осцилляции мембранного потенциала, в МХХ

1. Периодическая стимуляция электрическим током достаточно высокой постоянной амплитуды. В этом случае, если стимулы наносятся позднее интервала рефрактерности, они вызывают периодические ответы в виде ПД.
2. Увеличение концентрации внеклеточного калия. Это увеличивает по-

тенциал Нернста для калия, а, стало быть, и потенциал покоя. Если это увеличение достаточно высоко, то потенциал покоя оказывается над пороговым уровнем, что вызовет осцилляции и без стимулирующего тока. Т.к. в МХХ нет параметров, непосредственно связанных с ионными концентрациями, то можно, напрямую меняя потенциал Нернста для ионов калия, вызвать авто-осцилляции в модели.

3. Уменьшение максимальной проводимости для ионов калия $\overline{g_K}$ более, чем в 2 раза, подобным же образом вызывает автоколебания (рис. 7.11).

Итак, модель Ходжкина-Хаксли достаточно хорошо воспроизводит, притом не только качественно, но и количественно, основные особенности процесса возбуждения реального нервного волокна.

Вместе с тем, при создании этой модели такие свойства волокна как рефрактерность, наличие порога и т.д. вовсе не закладывались в модель в явном виде и оказались предсказаниями модели.

Как мы уже замечали выше, МХХ легла в основу построения моделей возбуждения различных возбудимых клеток. Например, модели генерации потенциала действия в сердечных клетках разного типа также опираются на МХХ. Одна из таких моделей, разработанная профессором Д.Ноблом из Оксфордского университета для мышечных клеток желудочка сердца, обсуждается в разделе 9.

8. МОДЕЛИРОВАНИЕ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

8.1. Механизмы мышечного сокращения

Способность к движению - одно из характерных свойств всех живых организмов, начиная от простейших и кончая самыми сложными [32].

Мышечная ткань является возбудимой. Мышечные клетки имеют способность преобразовывать электрический сигнал в механическое сокращение, которое позволяет мышечным клеткам выполнять работу. Интервалы электрической стимуляции различны у разных видов животных в зависимости от типа мышц, например, для сердечных мышц это сотни миллисекунд в зависимости от сердечного ритма.

В ответ на одиночный электрический стимул в мышечной клетке развивается потенциал действия, вслед за которым мышца развивает одиночный цикл сокращения-расслабления. Например, в сердечной мышце при периодической стимуляции наблюдаются периодические сокращения (рис. 8.1). Связь между возбуждением и механическим ответом мышцы называется *электромеханическим сопряжением*.

В любом цикле сокращения-расслабления выделяют *фазу сокращения*, т.е. фазу нарастания напряжения (силы к площади поперечного сечения) или укорочения мышцы и фазу расслабления, т.е. фазу спада напряжения или обратное растяжение мышцы и возврат на исходную начальную длину.

Мышцы делятся на 2 класса – поперечно-полосатые и гладкие мышцы. К первым относят все мышцы опорно-двигательного аппарата и сердечную мышцу. Гладкие мышцы обеспечивают механическую функцию всех внутренних органов, кроме сердца.

Мышечные клетки называются миоцитами, клетки сердечной мышцы – кардиомиоцитами.

Поперечно-полосатые мышцы обладают поперечной исчерченностью – чередованием светлых и темных полос, заметным с помощью микроскопа.

Кардиомиоциты – клетки неправильной цилиндрической формы дли-

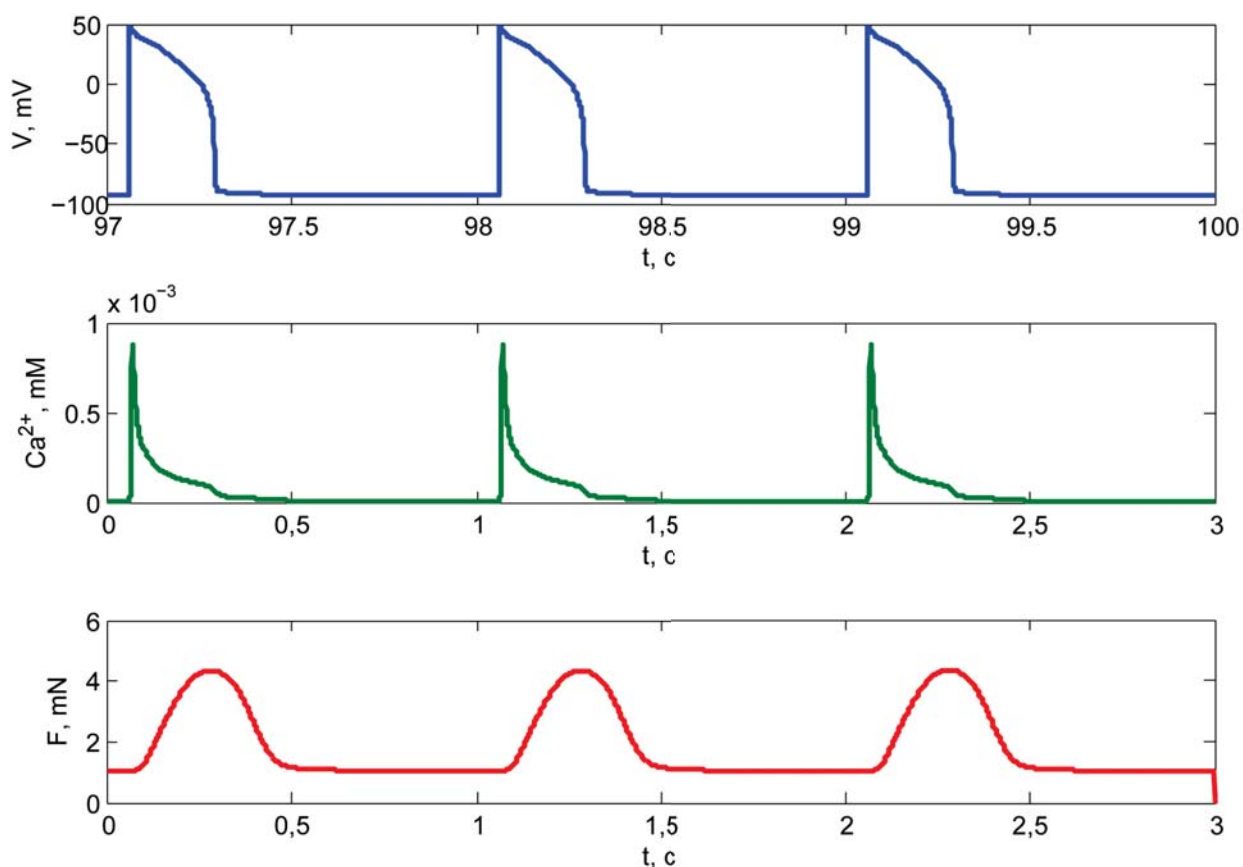


Рис. 8.1. Электромеханическое сопряжение в сердечной мышце. Сверху вниз – потенциал действия, изменение концентрации свободного кальция в клетке и генерируемая сила мышцы при периодической стимуляции

ной 100-150 мкм и диаметром 10-20 мкм. Рисунок 8.2 демонстрирует электронно-микроскопическую фотографию сердечной клетки, на которой видна ее поперечно-полосатая структура.

Схема организации мышцы показана на рисунке 8.3. Мышца состоит из пучков *волокон*, каждое волокно состоит из *миофибрилл* (сократительных белков), состоящих из элементарных сократительных единиц *саркомеров*.

На рисунке 8.4 показано одиночное волокно, состоящее из миофибрилл.

Каждая миофибрилла разделена на множество сократительных единиц, называемых саркомерами. Каждый саркомер имеет длину около 2.5 мкм и ограничен двумя так называемыми Z-дисками (Z-линия). Каждый саркомер содержит два типа параллельных друг другу белковых *филаментов* (нитей): тонкие нити *актина* и толстые нити *миозина*. К Z-дискам крепятся концы актиновых филаментов. Если смотреть с торца, 6 тонких нитей



Рис. 8.2. Одиночный кардиомиоцит

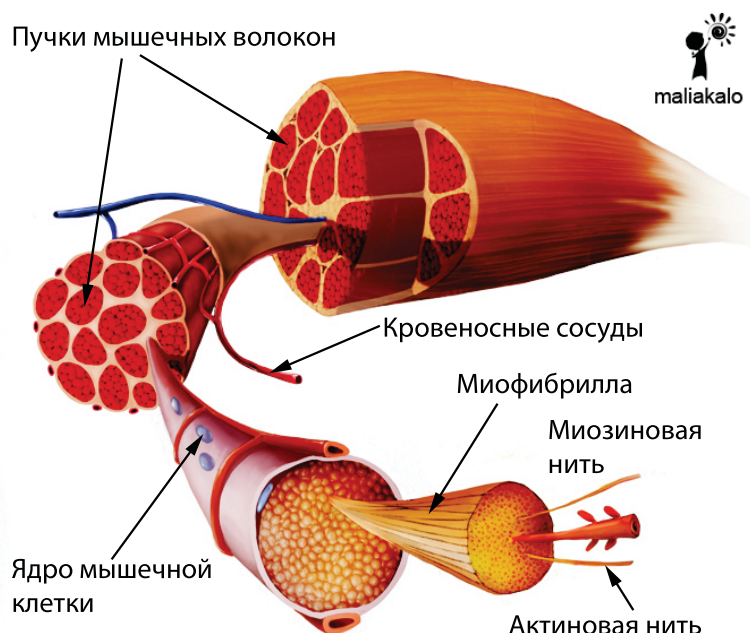


Рис. 8.3. Структура мышцы

расположены вокруг каждой центральной толстой нити в шестиугольном порядке, в то же время каждая тонкая нить окружена тремя толстыми (см. рис. 8.4) [12].

Если смотреть сбоку, в саркомере есть области, где тонкие и толстые нити перекрываются и не перекрываются. Области, где нет перекрытия, содержащие только тонкие нити, называются I-band (I-диски), от слова «изотропный», а области, содержащие миозиновые (толстые) нити, перекрывающиеся с тонкими, называются A-band (A-диски), от слова «анизотропный». Центральная область саркомера, содержащая только толстые нити, называется H-zone (H-зона). Во время сокращения-расслабления за счет взаимодействия между толстыми и тонкими нитями перекрытие между ними динамически меняется сначала увеличивается, а затем возвращается к исходному уровню, зависящему от начального растяжения саркомеров,

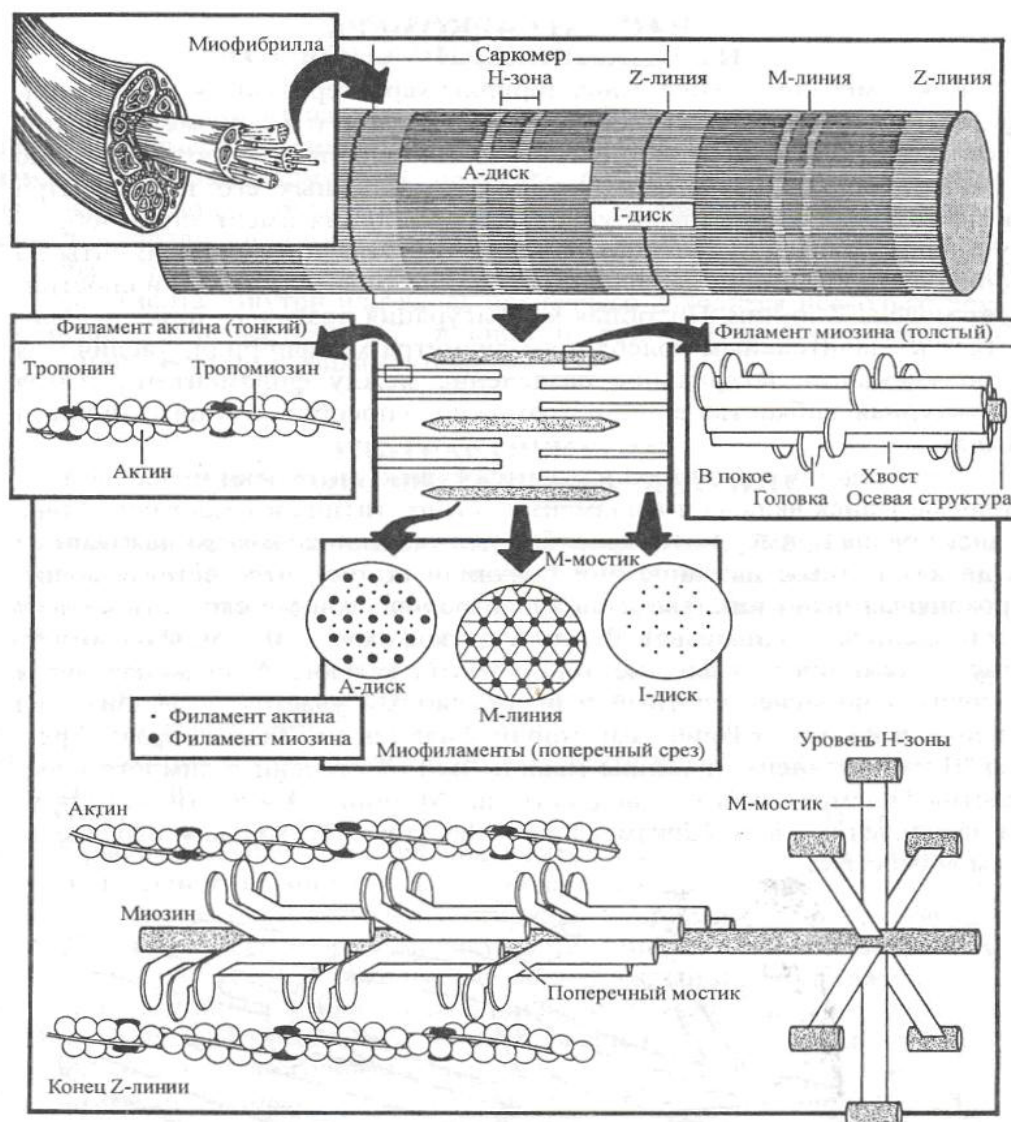


Рис. 8.4. Структура миофибрилл. Иллюстрации заимствованы из книги Алтера М.Дж. Наука о гибкости [2]

другие зоны соответственно тоже изменяют свои длины.

8.1.1. Мостиковая теория мышечного сокращения. Теория скользящих нитей

Толстые нити состоят из белка *миозина*, который образован полипептидной цепочкой с глобулярной головкой (см. рис. 8.5). Эти головки при взаимодействии с тонкой нитью образуют *поперечные мостики*, формируя связь, которая действует по принципу трещетки (шестеренки, храповика), чтобы тянуть тонкие нити. Кроме того, миозиновые головки могут дефосфорилировать АТФ в качестве источника энергии.

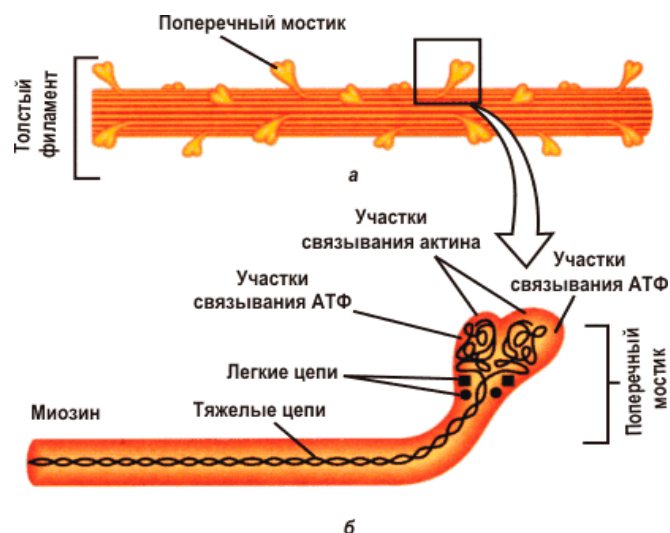


Рис. 8.5. Толстые нити миофибрилл. (а) Центральную часть толстого филамента составляют тяжелые цепи молекул миозина, головки которых ориентированы в противоположном направлении в двух половинах толстого филамента. (б) Структура молекулы миозина. Две глобулярные головки каждой молекулы образуют боковые выступы – поперечные мостики толстого филамента, которые могут связываться с активными центрами на тонкой нити

Тонкие нити состоят из трех типов белков: *актина* и регуляторного белкового комплекса – связанных друг с другом молекул *тропомиозина* и *тропонина* (см. рис. 8.6). Каждая молекула актина (мономер) имеет примерно сферическую форму – глобула, они группируются в двухнитевую спираль. Тропомиозин, белок в форме стержня или палочки, образует основу двойной спирали. Тропонин состоит из трех молекул, одна из которых содержит центр связывания для кальция. В отсутствие кальция тропонин-тропомиозиновый комплекс закрывает на актиновой нити места для связывания с миозином. Когда кальций связывается с тропонином, меняется конформация тропонин-тропомиозинового комплекса так, что на актиновой нити открываются места для связывания поперечных мостиков.

Сокращение происходит, когда образуются поперечные мостики, они претерпевают конформационное изменение, обуславливающее генерацию усилия, заставляющего тонкие нити скользить вдоль толстых нитей.

В головке миозиновой молекулы содержится фермент АТФаза, который гидролизует АТФ в кинетическом цикле поперечного мостика, а именно без преобразования АТФ невозможно отсоединение мостиков. Этим, в частно-

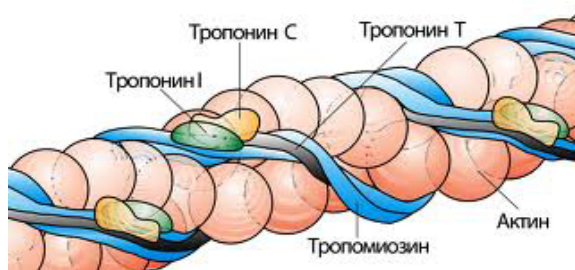


Рис. 8.6. Тонкие нити

сти, объясняется трупное окоченение – невозможность расслабления мышц в отсутствии энергии. Энергия, высвобождаемая в ходе этой реакции, лежит в основе механической работы, осуществляемой поперечным мостиком.

8.1.2. Сопряжение возбуждения с сокращением (электромеханическое сопряжение)

Мышечное сокращение клетки запускается потенциалом действия (ПД), который генерируется в ответ на стимул передаваемый от нейрона в скелетной мышце или от клетки к клетке вслед за периодическим возбуждением пейсмейкерных клеток (водителей ритма) в сердечной ткани. Этот процесс называется возбуждением.

В сердечной мышце управляемые разностью потенциалов кальциевые каналы открываются вследствие развития ПД и ионы кальция входят в клетку, запуская высвобождение дополнительного кальция из саркоплазматического ретикулума (СР) – внутриклеточного кальциевого накопителя (депо), представляющего собой сеть, как бы опутывающую миофибриллы (см. рис. 8.7).

Характерное изменение внутриклеточной концентрации свободного кальция ($[Ca^{2+}]_i$) – быстрый рост вслед за началом возбуждения и последующий более медленный спад, – называется *кальциевым переходом*. Увеличение $[Ca^{2+}]_i$ на порядок величин по сравнению с покоем (с 0.1 до 1 – 2 мкМ) во время возбуждения вызывает активное образование регуляторного комплекса на актине и изменение в его структуре, что позволяет

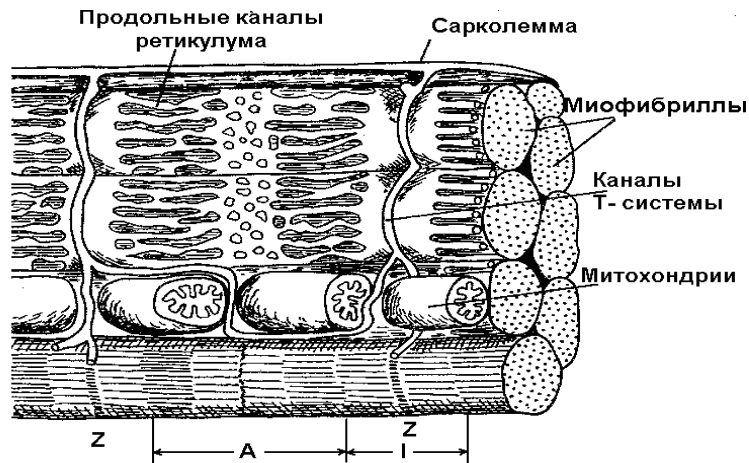


Рис. 8.7. Структура мембраны мышечного волокна с характерными впячиваниями (Т-системой) и сети внутриклеточных накопителей кальция – саркоплазматического ретикулума. Иллюстрации заимствованы из монографии Яковлева Н.Н. [35]

толстым нитям связываться с тонкими и тянуть их, приводя к сокращению мышцы.

Итак, имеются 3 взаимосвязанных компонента электромеханического сопряжения, которые во времени следуют друг за другом: ПД, кальциевый переход, и сокращение (рис. 8.8).

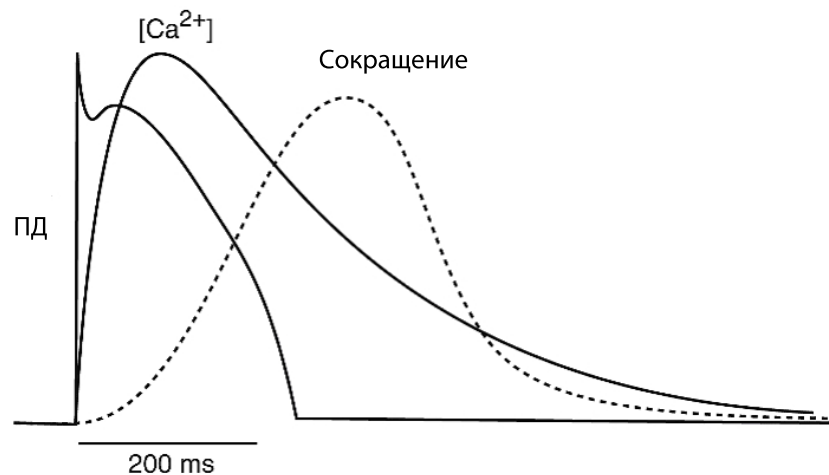


Рис. 8.8. Три компонента электромеханического сопряжения. Показаны ПД, кальциевый переход, и сокращение, характерные для миоцитов желудочков сердца

8.1.3. Частота сокращений мышцы и механический ответ

1) В сердечной мышце происходят циклические сокращения, вызванные периодической электрической стимуляцией клеток со стороны клеток – во-

дителей ритма. Интервал стимуляции различен у разных видов животных, обычно – это сотни миллисекунд. Пример – пульс человека в покое 1 Гц, а при нагрузке до 2 и более Гц. Описанные выше процессы возбуждения-сокращения происходят периодически с этой внешней частотой.

2) В скелетной мышце импульс подается из спинного мозга в момент появления механической задачи, например, удержание груза, и постоянно подается (повторяется) с высокой частотой (≥ 20 Гц) до конца выполнения этой задачи.

В отличие от сердечной мышцы в скелетной мышце можно инициировать не только одиночные сокращения, но и так называемое *тетаническое* сокращение. *Тетанус* – состояние длительного непрерывного напряжения мышцы, возникающее при поступлении к ней нервных импульсов с такой частотой, что расслабления между последовательными одиночными сокращениями практически не происходит [56].

В результате кальциевые сигналы возникают вновь и вновь, когда еще предшествующий сигнал не успел уменьшиться. В результате наблюдается стационарный режим с постоянной силой сокращения в течение интервала выполнения механической задачи.

В скелетной мышце различают два вида тетануса: зубчатый и гладкий. Эти два вида сокращений достигаются за счет разной частоты стимуляции мышц. В скелетной мышце частоты стимуляции могут достигать 50 Гц, т.к. у них очень короткий ПД. Гладкий тетанус образуется при более высокой частоте стимуляции, чем зубчатый.

Таким образом, для миокарда характерны циклические сокращения, связанные с циклами изменения $[Ca^{2+}]_i$ и кальциевой активации сократительных белков, а скелетная мышца может в физиологических условиях сокращаться при постоянном уровне кальциевой активации, т.е. в условии тетануса.

8.1.4. Режимы механического нагружения мышцы

В физиологических экспериментах используются, главным образом, два основных режима механического нагружения мышцы: изометрический или изотонический.

Изометрический режим. В изометрическом режиме фиксируется длины мышцы, при этом исходное растяжение саркомеров (и соответствующая длина зоны перекрытия между миофиламентами) может варьировать в зависимости от заданной длины мышцы. Мышца генерирует изометрическое напряжение при заданной частоте стимуляции (одиночное сокращение или тетанус) (см. пример изометрического сокращения сердечной мышцы на рис. 8.9).

В сердечной мышце изометрический режим сокращения отчасти имитирует изоволюмическую фазу сердечного цикла, когда, например, напряжение растёт в стенке левого желудочка и увеличивается давление в полости желудочка без изменения его объема, пока не откроется аортальный клапан и не начнется фаза изгнания крови из желудочка в аорту.

Изотонический режим. В изотоническом режиме фиксируется нагрузка на мышцу и она укорачивается (растягивается) под заданной постоянной нагрузкой. Например, для сердечной мышцы изотоническая фаза имитирует фазу выброса крови во время сокращения интактного сердца.

В изотоническом режиме сокращения (см. пример изотонического сокращения сердечной мышцы на рис. 8.9) нагрузка на мышцу поддерживается постоянной и в фазу сокращения, и в фазу расслабления.

В течение сократительного цикла мышцы при заданной нагрузке можно выделить несколько чередующихся фаз сокращения: фазу изометрического напряжения, фазу изотонического укорочения/растяжения и фазу изометрического расслабления (см. кривые 2). Невозбуждённая мышца сначала пассивно растягивается до некоторой начальной длины L_{init} вследствие приложенной преднагрузки r . В интактном желудочке начальное растяжение мышцы обусловлено притоком крови в полость желудочка в диа-

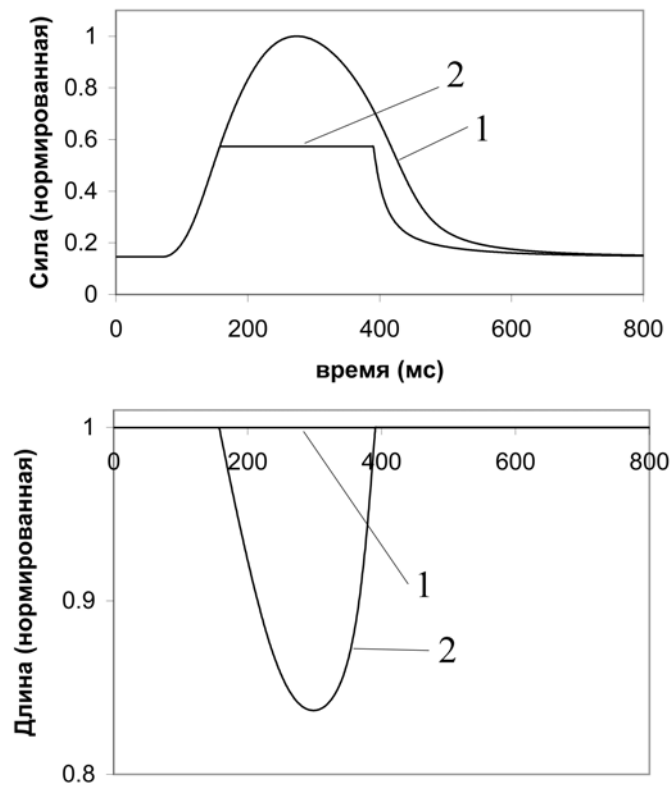


Рис. 8.9. Режимы механического нагружения сердечной мышцы. Изменение силы и длины мышцы в изометрическом (1) и изотоническом (2) режиме сокращений

стола и соответствует установившемуся конечно-диастолическому объему. Эта длина фиксируется, а к преднагрузке добавляется постнагрузка D , которая более не растягивает мышцу. В сердце закрытие атриовентрикулярного клапана (например, митрального клапана у левого желудочка) в конце диастолы не позволяет в начале нового цикла изменять размер желудочка до тех пор, пока не откроется аортальный (или легочный) клапан.

В изометрическую фазу сокращения сила, развиваемая мышцей, должна достигнуть уровня суммарной нагрузки $P = D + r$. После этого мышце позволяют укорачиваться, а затем растягиваться под постоянным грузом P – это собственно изотоническая фаза. В сердце эта фаза начинается, когда давление в полости желудочка выравнивается с давлением в аорте и открывается аортальный клапан, после чего начинается фаза изгнания.

Когда длина мышцы в фазу растяжения возвращается на исходный уровень, длину мышцы снова фиксируют и дальнейший спад силы до исход-

ного уровня происходит при постоянной длине L_{init} – это фаза изометрического расслабления.

В отличие от сердечной мышцы, в скелетной мышце и изометрические, и изотонические сокращения могут быть получены не только в течение однократного сокращения, но и при так называемых тетанических сокращениях, т.е. в условиях тетануса.

8.2. Связь длина-сила мышцы. Закон Франка-Старлинга для сердца

Из-за структуры саркомера напряжение, развиваемое мышцей, зависит от длины мышцы. На рисунке 8.10 показана зависимость амплитуды изометрического напряжения как функции длины саркомера.

При малых длинах саркомера увеличение длины приводит к увеличению генерируемой силы мышцы вместе с увеличением перекрытия между тонкими и толстыми миофиламентами (восходящая ветвь связи длина-сила). Однако при больших длинах саркомера дальнейшее увеличение длины либо не меняет силы – наблюдается плато связи длина-сила, либо сила начинает падать с ростом длины – нисходящая ветвь связи длина-сила.

Скелетная мышца работает при длинах саркомеров, соответствующих плато связи длина-сила. Сердечная мышца работает в диапазоне длин саркомеров, соответствующих восходящей ветви, т.е. зависит от длины зоны двойного перекрытия миофиламентов. Но в отличие от скелетной мышцы связь длина-сила для сердечной мышцы оказывается гораздо круче и не может быть объяснена лишь только изменением длины зоны перекрытия тонких и толстых миофиламентов (рис. 8.11). Для объяснения этого феномена следует привлекать более тонкие механизмы мышечного сокращения в сердечной мышце, которые будут рассмотрены в разделе 9.

Применительно к целому сердцу связь длина-сила отражается в фундаментальном законе сердца – законе Франка-Старлинга: «сила сокращения желудочков сердца, измеренная любым способом, является функцией длины мышечных волокон перед сокращением», т. е. чем больше наполнение

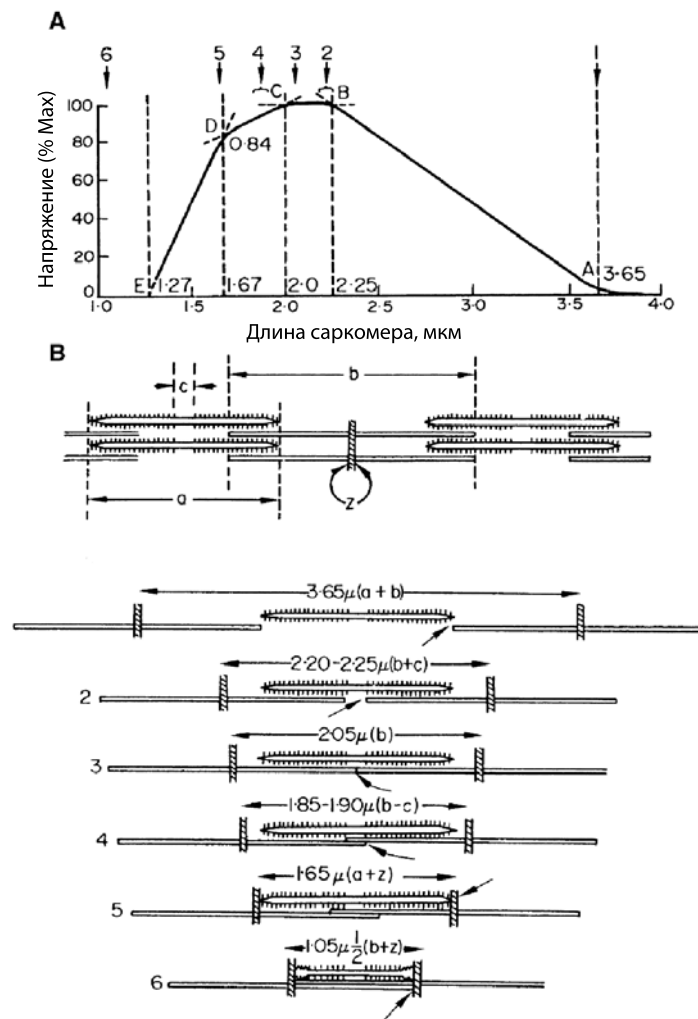


Рис. 8.10. Связь длина-сила мышцы (А) и зависимость зоны перекрытия между тонкими и толстыми нитями в саркомере (В) [56]

камер сердца кровью в диастолу, тем больше сердечный выброс.

8.3. Связь сила-скорость: модель Хилла

Одна из наиболее ранних моделей мышечного сокращения была создана А. Хиллом в 1938 году [32] еще до того, как стали известны подробности строения саркомеров, Хилл ничего не знал про поперечные мостики.

В скелетной мышце (т.е. при постоянной кальциевой активации мышцы) при длинах, соответствующих плато изометрической связи «длина-сила», он проводил следующие эксперименты. К растянутой активной мышце, генерирующей постоянную силу, подвешивался груз p , меньший изометрической силы мышцы. Затем мышце позволяли укорачиваться под этим

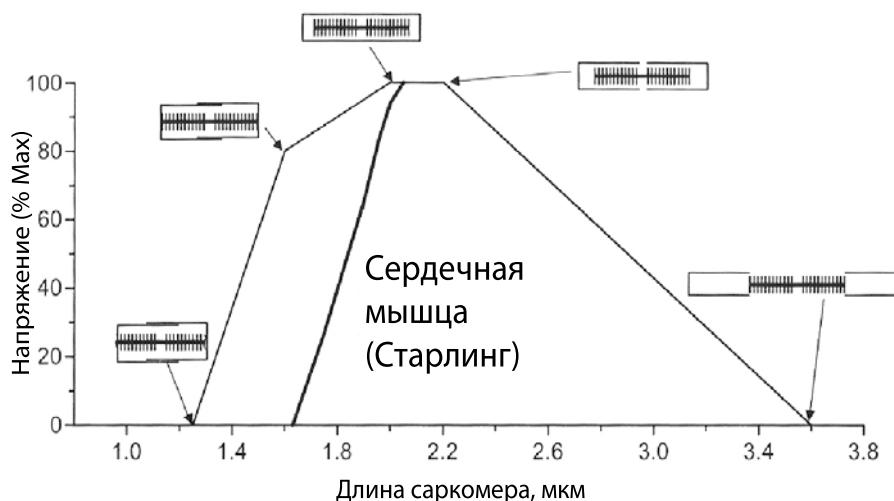


Рис. 8.11. Связь длина-сила для сердечной мышцы [56]

постоянным грузом.

Оказывается, что после короткого переходного процесса устанавливается постоянная скорость укорочения v , соответствующая данной величине нагрузки p . Причем, чем меньше p , тем больше v . В целом $v(p)$ – монотонно убывающая зависимость. Хиллом в ходе тщательных измерений была получена аналитическая аппроксимация этой зависимости. Оказалось, что она имеет гиперболический вид.

Итак, Хилл заметил, что когда мышца сокращается под постоянным грузом (изотонически), стационарная зависимость между постоянной скоростью укорочения v и нагрузкой p хорошо описывается соотношением «сила-скорость»:

$$(p + a)v = b(p_0 - p), \quad (8.1)$$

где a и b – параметры уравнения Хилла, которые зависят от типа мышцы и от условий, в который происходит эксперимент (в частности, от температуры). Типичная кривая «сила-скорость» показана на рисунке 8.12.

Когда $v = 0$, $p = p_0$, т. е. p_0 представляет собой изометрическую силу – максимально возможную силу, развиваемую мышцей при фиксированной длине. Напряжение, генерируемое скелетной мышцей в изометрическом тетанусе, почти не зависит от длины (скелетная мышца работает на длинах зоны плато кривой длина-сила), поэтому p_0 почти не зависит от длины.

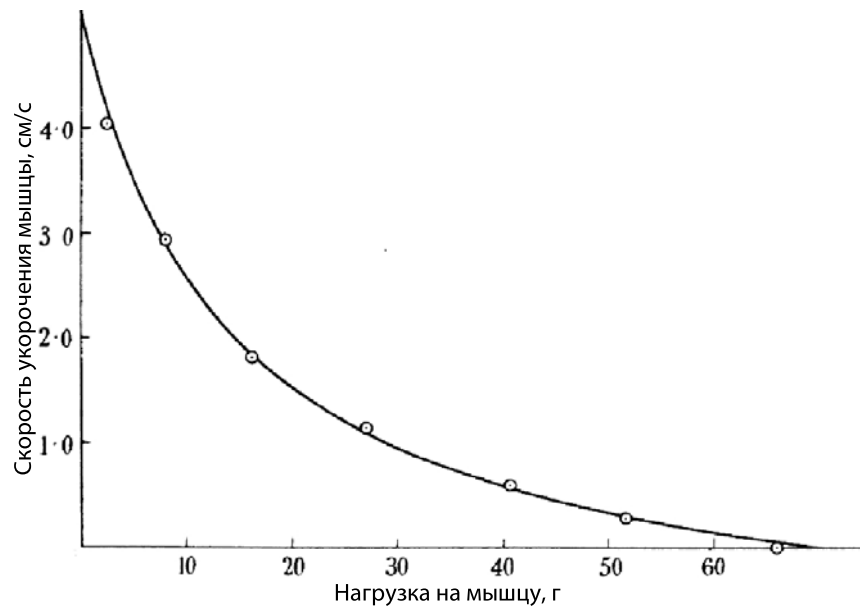


Рис. 8.12. Связь между нагрузкой на мышцу и скоростью ее укорочения (Хилл, 1938). Экспериментально полученные значения (кружки) соединены кривой, удовлетворяющей уравнению Хилла с параметрами $a = 14.35$ грамм силы, $a/p_0 = 0.22$, $b = 1.03$ см/с

Когда $p = 0$, $v = bp_0/a$, эта скорость является максимальной скоростью, при которой мышца может укорачиваться и соответствует скорости укорочения при нулевой нагрузке.

8.3.1. Реологические модели

Мышечная ткань (как сплошная среда) обладает одновременно и упругими, и вязкими свойствами (вязкоупругостью). Свойства таких сред называются реологическими.

Какой-либо материал может быть представлен в виде реологической модели – комбинации вязких и упругих элементов. Упругий элемент представляется в виде пружинки, вязкий – в виде демпфера. В реальном материале морфологически (т.е. структурно) таких элементов может и не быть, поэтому реологические модели – это не модели структуры, а модели функционального поведения вязко-упругих тел.

Мышца также может быть представлена в виде реологической модели – комбинации различных элементов (рис. 8.13). Модель активной мышцы включает в себя активный сократительный элемент, представляющий со-



Рис. 8.13. Упругий (слева) и вязкий (справа) элементы в реологических схемах

бой саркомеры, т.е. он может сам генерировать активную силу. В реологическую схему мышцы также включаются пассивные вязкие и/или упругие элементы. Они связаны с пассивными свойствами мышечной ткани, например, с вязкостью и упругостью сократительных белков, соединительно-тканного каркаса и др., т.е. со свойствами ткани как материала.

Сократительный элемент представляет сократительные белки. Параллельная упругость относится главным образом к белку тайтину и частично к соединительно-тканному каркасу. Последовательная упругость – упругие свойства миофиламентов и структурных и регуляторных белков, а также концевые эффекты или более податливые кардиомиоциты (когда они еще не активированы, или активированы, но не успели развить достаточное напряжение).

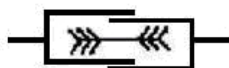
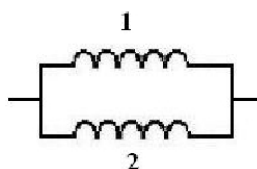


Рис. 8.14. Сократительный элемент в реологических схемах

Правила соединения элементов

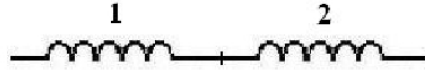
1. Параллельное



Силы: $P = P_1 + P_2$

Длины: $l = l_1 = l_2$

2. Последовательное



Силы: $P = P_1 = P_2$

Длины: $l = l_1 + l_2$

Чтобы имитировать переходный процесс изменения силы мышцы, возникающий при изменении ее длины, Хилл построил модель мышечного волокна, состоящую из сократительного элемента, соединенного с последовательным упругим элементом (см. рис. 8.15). Характеристики сократительного элемента удовлетворяют соотношению «сила-скорость». Обозначим за l длину сократительного элемента, за x – длину упругого элемента, тогда $L = l + x$ – общая длина мышцы. Обозначив за v скорость сокращения сократительного элемента, мы получим:

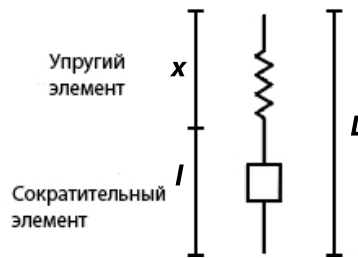


Рис. 8.15. Схема двухэлементной модели скелетной мышцы Хилла

$$v = -\frac{dl}{dt},$$

где v , по определению, связана с нагрузкой уравнением «сила-скорость».

Для моделирования переходного процесса Хиллу нужна была связь между наблюдаемыми переменными dp/dt и dL/dt (точнее, $p(t)$ и $L(t)$ – наблюдаемые, а их производные вычисляются на основе измерений $p(t)$ и $L(t)$).

Чтобы получить дифференциальное уравнение для p , воспользуемся тем, что при последовательном соединении элементов их силы равны, т.е. сила сократительного элемента равна силе упругого элемента. Предположим, что сила, генерируемая упругим элементом – функция его длины

$p = P(x)$. Используем правило дифференцирования сложной функции и уравнение «сила-скорость». Справедливо уравнение:

$$\frac{dp}{dt} = \frac{dP}{dx} \frac{dx}{dt} = \frac{dP}{dx} \left(\frac{dL}{dt} - \frac{dl}{dt} \right) = \frac{dP}{dx} \left(\frac{dL}{dt} + v \right) = \frac{dP}{dx} \left(\frac{dL}{dt} + \frac{b(p_0 - p)}{p + a} \right).$$

Остается определить dP/dx .

Хилл сделал наиболее простое предположение, что упругий элемент ли-
неен. Это значит, что его силу можно представить в виде $P(x) = \alpha(x - x_0)$,
где x_0 – заданная длина покоя. Тогда $dP/dx = \alpha$, и дифференциальное
уравнение относительно p будет иметь вид:

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \left(\frac{dL}{dt} + \frac{b(p_0 - p)}{p + a} \right).$$

8.3.2. Некоторые решения модели Хилла

Изометрический тетанус

Если скелетную мышцу привести в состояние тетануса с помощью повто-
ряющейся стимуляции, через определенный период времени мышца разо-
вьет изометрическое напряжение. В изометрических условиях сокращения
длина не меняется, поэтому $dL/dt = 0$. Следовательно, ДУ для напряже-
ния примет вид:

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{b(p_0 - p)}{p + a}.$$

Поскольку это дифференциальное уравнение первого порядка, его каче-
ственное поведение легко можно понять. Правая часть имеет единственный
ноль при $p = p_0$, это устойчивая особая точка. Значит, все решения урав-
нения должны стремиться к p_0 при $t \rightarrow \infty$. Решение может быть найдено
в явном виде, т.к. это уравнение с разделяющимися переменными. Найдём
общее решение данного ДУ:

$$\frac{p + a}{p_0 - p} dp = \alpha b dt,$$

$$\frac{p + a}{p_0 - p} dp = -\frac{-p - a}{p_0 - p} dp = -\frac{p_0 - p - p_0 - a}{p_0 - p} dp = -\left(1 - \frac{p_0 + a}{p_0 - p}\right) dp,$$

$$\int -\left(1 - \frac{p_0 + a}{p_0 - p}\right) dp = -p + (p_0 + a) \int \frac{-d(p_0 - p)}{p_0 - p} = -p - (p_0 + a) \ln(p_0 - p) + C,$$

$$-p - (p_0 + a) \ln(p_0 - p) + C = \alpha bt.$$

Используем начальное условие $p(0) = 0$ получим частное решение:

$$-(p_0 + a) \ln p_0 + C = 0, \text{ где } C = (p_0 + a) \ln p_0,$$

$$-p - (p_0 + a) \ln(p_0 - p) + (p_0 + a) \ln p_0 = \alpha bt - p - (p_0 + a) (\ln(p_0 - p) - \ln p_0) = \alpha bt.$$

Получим уравнение $-p - (p_0 + a) \ln\left(\frac{p_0 - p}{p_0}\right) = \alpha bt$, которое в неявной форме описывает временной ход напряжения (см. рис. 8.16). При $t \rightarrow \infty$ $p \rightarrow p_0$, как и предполагалось.

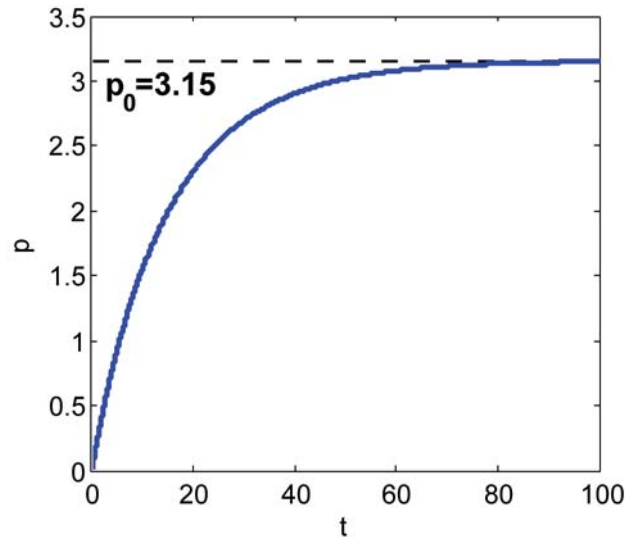


Рис. 8.16. Изометрический тетанус

Отпускание мышцы с постоянной скоростью

Предположим, что мышцу, которую первоначально удерживали в ее изометрическом напряжении, отпускают и позволяют ей укорачиваться с постоянной скоростью u . Кажется справедливым то, что напряжение мышцы должно уменьшаться, пока оно не достигнет значения p_u , определяемого соотношением «сила-скорость» для скорости u . Дифференциальное уравнение для p в этом случае:

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \left(-u + \frac{b(p_0 - p)}{p + a} \right).$$

с начальным условием $p(0) = p_0$.

Мы полагаем, что p_0 не меняется в ходе сокращения. Как и в предыдущем случае, мы имеем ОДУ первого порядка, правая часть которого имеет единственный корень, это устойчивая особая точка $p = p_u$, где p_u определяется соотношением «сила-скорость» $(p_u + a)u = b(p_0 - p_u)$.

Чтобы найти решение, разделим переменные:

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{-u(p + a) + b(p_0 - p)}{p + a} = \alpha \frac{(bp_0 - ua) - (b + u)p}{p + a},$$

$$\frac{p + a}{(bp_0 - ua) - (b + u)p} dp = \alpha dt \frac{p + a}{\frac{bp_0 - ua}{b + u} - p} dp = \alpha(b + u)dt.$$

p_u удовлетворяет соотношению «сила-скорость» для скорости u : $p_u = \frac{bp_0 - ua}{b + u}$, следовательно

$$\frac{p + a}{p_u - p} dp = \alpha(b + u)dt.$$

Преобразуем левую часть, получим:

$$-\frac{p + a}{p - p_u} = -\frac{p - p_u + p_u + a}{p - p_u} = -(1 + \frac{p_u + a}{p - p_u}),$$

$$\int -(1 + \frac{p_u + a}{p - p_u}) dp = \int \alpha(b + u)dt,$$

$$-p - (p_u + a) \ln(p - p_u) + c = \alpha(b + u)t.$$

Используем начальное условие $p(0) = p_0$ найдем частное решение:

$$-p_0 - (p_u + a) \ln(p_0 - p_u) + c = 0, \text{ где } c = p_0 + (p_u + a) \ln(p_0 - p_u),$$

$$p_0 - p + (p_u + a) \ln \frac{p_0 - p_u}{p - p_u} = \alpha(b + u)t.$$

При $t \longrightarrow \infty$ $p \longrightarrow p_u$, как и должно быть (см. рис. 8.17).

Модель Хилла является чисто феноменологической моделью, т.е. мо-

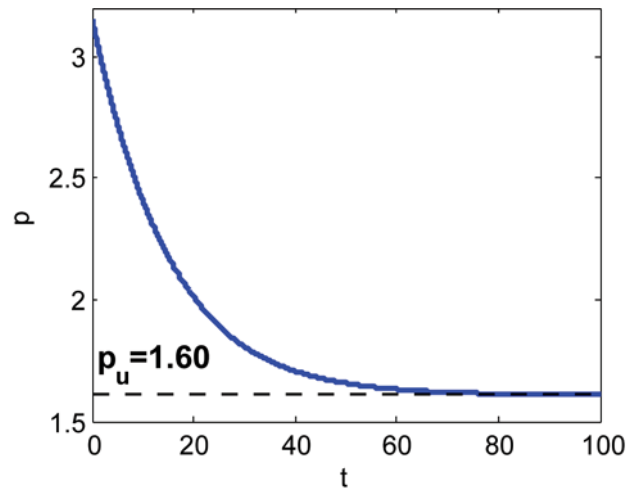


Рис. 8.17. Отпускание мышцы с постоянной скоростью

делью, воспроизводящей не механизмы поведения, а феноменологию, т.е. явления. В ней не заложены внутренние законы мышечного сокращения.

8.4. Мостиковая модель мышечного сокращения Хаксли

Через 20 лет после того, как была предложена модель Хилла, наблюдения, ставшие возможными благодаря усовершенствованию экспериментальных методик, привели к выводу, что модель Хилла имеет серьезные ограничения (несовпадение вычислений с экспериментально полученными зависимостями). В частности, источником ошибочных вычислений может быть предположение о том, что соотношение «сила-скорость» должно выполняться немедленно после изменения напряжения, что не соответствует экспериментальным наблюдениям по восстановлению напряжения после ступенчатого изменения длины мышцы. Это привело к созданию модели совершенно другого типа, основанной на кинетике поперечных мостиков, а не на воображаемых сократительном и упругом элементе. Первая модель такого нового типа принадлежит А. Хаксли (1957 г.) [48] и является основой для многих последующих моделей поведения мышцы.

Предположим, что поперечный мостик может связаться с центром связывания на актине в положении x , где x – расстояние вдоль тонкой нити от позиции, при которой мостик не развивает силы ($x = 0$), до центра

связывания (рис. 8.18).

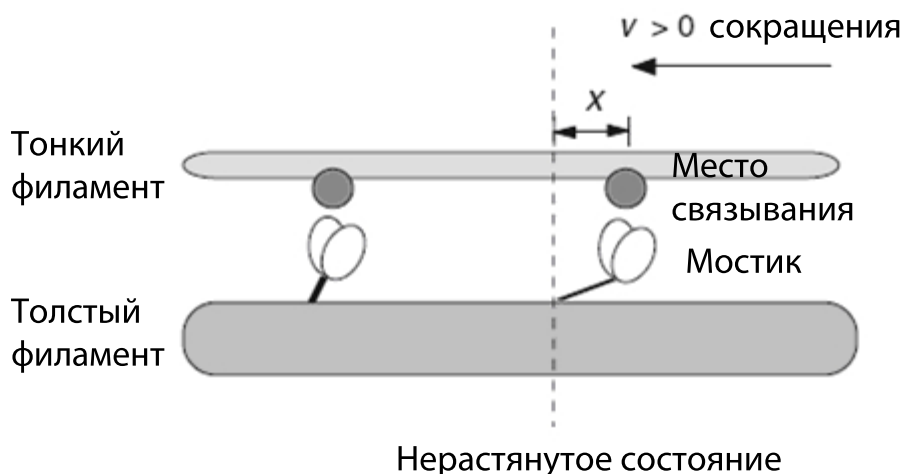


Рис. 8.18. Схема мостиковой модели Хаксли

Поперечные мостики могут быть связаны с центром связывания при $x > 0$, в этом случае они развивают активную сократительную силу, зависящую от $x > 0$, или они могут быть связаны с актином при $x < 0$, в этом случае они развивают силу, которая препятствует сокращению.

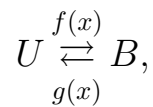
Будем говорить, что поперечный мостик, связанный с центром связывания на актине в положении x , имеет смещение x от ненапрянутого состояния, определяющее его силу. Хаксли в своей модели предположил, что места связывания на актине находятся достаточно далеко друг от друга, так что каждому мостику доступно только одно такое место. С учетом этого предположения, каждый мостик (связанный или несвязанный) может быть ассоциирован с единственным значением x . Поскольку мостики на противоположных сторонах саркомера по отношению к средней линии (Н-зоне) ориентированы противоположно друг другу, при укорочении саркомера половинки саркомера движутся навстречу друг другу, и изменение длины саркомера равно удвоенной величине смещения каждой из его половинок. Поэтому будем рассматривать динамику мостиков в одной из половинок саркомера, допустим для определенности – правой (рис. 8.18).

Обозначим за ρ число поперечных (связанных и несвязанных) мостиков со смещением x . Предполагается, что возможность связывания ограничена

некоторым интервалом $-x_0 < x < x_0$. Для простоты предполагается, что ρ не зависит ни от x на этом интервале, ни от времени t . Другими словами, для каждого смещения x число мостиков (связанных и несвязанных), оказавшихся в положении с таким смещением одинаково и не меняется во времени, т.е. распределение общего числа мостиков не меняется во времени, но при этом доля присоединенных мостиков будет меняться. Это – упрощение модели, – первоначально принятое для изометрического случая, когда мышца имеет фиксированную длину, но оно не обязательно должно выполняться в условиях, когда мышцу быстро растягивают внешней силой.

Обозначим $n(x, t)$ долю мостиков со смещением x , находящихся в связанном состоянии. Сильно упростив механизм реакции циклирования (прикрепления-открепления) мостика, предположим, что мостик может находиться только в двух состояниях – несвязанном (U – unbound) или сильно-связанном (B – bound), т.е. в состоянии, когда он генерирует силу.

Переходы между состояниями описываются простой схемой:



где константы скорости прямой и обратной реакции – функции смещения x .

Закон сохранения для доли связанных поперечных мостиков можно получить следующим образом.

Рассмотрим все связанные мостики, со смещением x в интервале $[a, b]$. Их общее число будет равно

$$\rho \int_a^b n(x, t) dx,$$

т.е. доля связанных поперечных мостиков на интервале равна:

$$N = \int_a^b n(x, t) dx.$$

Пусть $v > 0$ – скорость скольжения нитей актина относительно миозина

при заданной постоянной скорости укорочения саркомера (см. направление скорости движения на схеме, рис. 8.18). При этом скорость укорочения саркомера в 2 раза больше скорости скольжения нитей.

Если бы движения миофиламентов не было, т.е. $v = 0$, то кинетическое уравнение для доли прикрепленных мостиков имело бы вид:

$$\frac{dn}{dt} = f(x) \cdot (1 - n) - g(x) \cdot n,$$

т. е. мы имели бы в случае $v = 0$ фактически однопараметрическое семейство ОДУ с параметром x .

Однако, в общем случае, саркомер укорачивается с ненулевой скоростью (скорость скольжения миофиламентов равна v), и мы должны учесть ее влияние.

Поскольку мы рассматриваем случай укорочения мышцы, то движение нитей происходит справа налево и так же направлен "поток" мостиков через границы отрезка $[a, b]$.

Покажем, что через границу $x = a$ поток (количество в единицу времени) за пределы интервала равен $J(a, t) = \rho \cdot v \cdot n(a, t)$, а приток внутрь интервала через границу $x = b$ равен $J(b, t) = \rho \cdot v \cdot n(b, t)$ (рис. 8.19).

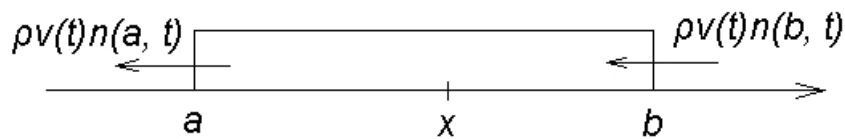


Рис. 8.19. Изменение доли связанных поперечных мостиков в интервале $[a, b]$ в связи с движением нитей

Действительно, общее количество мостиков выходящих за малый интервал времени Δt за границу a , двигаясь справа налево, определяется количеством мостиков, которые в момент времени t имели смещение x , не превышающее максимальное смещение $x_m = v \cdot \Delta t$, которое можно пройти, двигаясь со скоростью v за время Δt . Следовательно средний за время Δt

поток через границу a выражается соотношением:

$$J(a, t) \sim \rho \frac{\int_0^{x_m} n(a + \xi, t) d\xi}{\Delta t}.$$

По теореме о среднем имеем:

$$J(a, t) \sim \rho \frac{n(a + \bar{\xi}, t) \cdot x_m}{\Delta t} = \rho \frac{n(a + \bar{\xi}, t) \cdot v \Delta t}{\Delta t} = \rho \cdot n(a + \bar{\xi}, t) \cdot v,$$

где $\bar{\xi}$ – некоторая средняя точка на интервале $[0, x_m]$.

Далее перейдем к пределу при $\Delta t \rightarrow 0$ и получим:

$$J(a, t) = \rho \cdot n(a, t) \cdot v.$$

Аналогично получим формулу для $J(b, t) = \rho \cdot n(b, t) \cdot v$.

Следовательно, с учетом реакции прикрепления-открепления мостиков и движения нитей, имеем следующее уравнение для скорости изменения общего количества присоединенных мостиков во времени:

$$\begin{aligned} \rho \frac{\partial}{\partial t} \int_a^b n(x, t) dx &= \rho \int_a^b (f(x)(1 - n(x, t)) - g(x)n(x, t)) dx + J(b, t) - J(a, t) = \\ &= \rho \int_a^b (f(x)(1 - n(x, t)) - g(x)n(x, t)) dx + \rho \cdot v \cdot (n(b, t) - n(a, t)). \end{aligned}$$

В силу формулы Ньютона-Лейбница справедлива следующая замена:

$$n(b, t) - n(a, t) = \int_a^b \frac{\partial n(x, t)}{\partial x} dx.$$

Подставим это выражение в правую часть уравнения сохранения, внесем производную по времени под знак интеграла в левой части равенства и поделим все слагаемые на ρ . После этого перейдем от равенства интералов к равенству подынтегральных выражений и получим следующее уравнение Хаксли для динамики поперечных мостиков:

$$\frac{\partial n}{\partial t} - v \cdot \frac{\partial n}{\partial x} = f(x)(1 - n) - g(x)n. \quad (8.2)$$

Полученное уравнение есть уравнение в частных производных. Проведя аналогичные преобразования, как было показано выше, можно показать,

что уравнение (8.2) справедливо и для случая заданной скорости скольжения нитей как функции времени $v(t)$.

Вспомним, что $\rho \int_{-\infty}^{+\infty} n(x, t) dx$ – общее число связанных мостиков. Предположим, что каждый мостик представляет собой пружинку, развивающую силу упругости $r(x)$, зависящую от его смещения x . Т.е. любой мостик, растянутый на величину x по отношению к нейтральной позиции, развивает одну и ту же силу $r(x)$.

Тогда сила, развиваемая половинкой саркомера, будет равна

$$p = \rho \int_{-\infty}^{+\infty} r(x) n(x, t) dx. \quad (8.3)$$

Именно эта формула является ключевой для дальнейшего применения модели Хаксли.

Чтобы найти стационарную зависимость «сила-скорость» для мышцы, положим, что волокно движется с постоянной скоростью, и что $n(x, t)$ стационарно, т.е. $\frac{\partial n}{\partial t} = 0$.

Тогда стационарное распределение мостиков $n(x)$ – решение ОДУ первого порядка:

$$-v \frac{dn}{dx} = f(x)(1 - n) - g(x)n. \quad (8.4)$$

Если v мала, то $n(x)$ хорошо аппроксимируется квазистационарным решением: $n(x) = n_{\infty}(x) = \frac{f(x)}{f(x)+g(x)}$. При больших v $n(x)$ меняется медленно как функция x .

Итак, в общем случае зависимость сила-скорость имеет вид:

$$p = \rho \int_{-\infty}^{+\infty} r(x) n(x) dx,$$

где $n(x)$ – решение уравнения $-v \frac{dn}{dx} = (1 - n)f(x) - ng(x)$.

Большая сила достигается при меньших скоростях. При нулевой скорости изометрическая сила равна:

$$p_0 = \rho \int_{-\infty}^{+\infty} r(x) \frac{f(x)}{f(x) + g(x)} dx$$

При больших скоростях сила уменьшается, потому что мало время, в течение которого мостик находится близко от центра связывания, и поэтому связывание маловероятно, в результате чего меньшая доля поперечных мостиков генерирует силу. Другой фактор уменьшения силы при больших скоростях – это то, что большее число мостов успевают попадать в область $x < 0$ до того, как они открепятся, таким образом, генерируя силу, которая сопротивляется сокращению. При какой-то максимальной скорости сила, генерируемая мостиками с $x < 0$, уравнивается силой, генерируемой мостиками с $x > 0$, мышца перестает генерировать силу, достигается максимум скорости укорочения. Мы уже наблюдали, как это происходит в уравнении Хилла. Теория поперечных мостиков дает хорошее объяснение этого явления.

Чтобы получить конкретные формулы для связи сила-скорость, нужно подобрать подходящие функции $f(x)$ и $g(x)$, и затем вычислить $n(x)$ и p численно или аналитически.

Хаксли выбрал следующие кусочно-непрерывные функции:

$$f(x) = \begin{cases} 0, & x < 0 \\ \frac{f_1 x}{h}, & 0 \leq x \leq h \\ 0, & x > h \end{cases}, \quad g(x) = \begin{cases} g_2, & x \leq 0 \\ \frac{g_1 x}{h}, & x > 0 \end{cases}$$

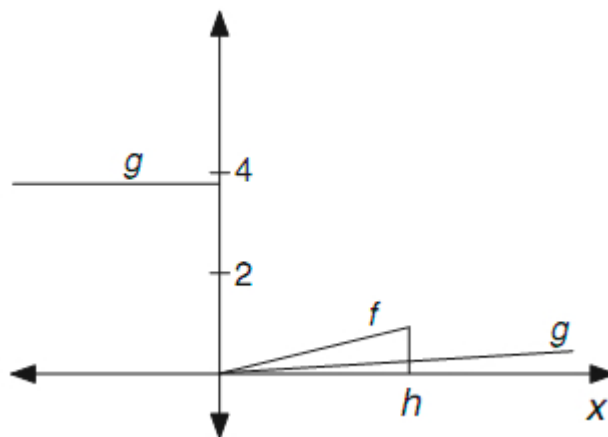


Рис. 8.20. Функции $f(x)$ и $g(x)$ в модели Хаксли

В этой модели скорость отсоединения мостика g небольшая, когда мо-

стик генерирует сократительную силу, а когда x отрицательно, и поперечный мостик сопротивляется сокращению, то g возрастает. По тем же причинам мостики не присоединяются при отрицательных x ($f = 0$ при $x < 0$), и скорость прикрепления возрастает с ростом x . Начиная с некоторого значения $x = h$, скорость прикрепления поперечных мостиков становится нулем, т.к. предполагается, что мостики не могут присоединяться к месту связывания, которое находится слишком далеко.

Решение стационарного уравнения для $n(x) - v \frac{\partial n}{\partial x} = (1 - n)f(x) - ng(x)$ можно получить с помощью кусочного решения ДУ.

Обозначим n_1, n_2, n_3 – решения на интервалах $x \leq 0, 0 < x \leq h$, и $h < x$.

Тогда n_1 – решение уравнения $-v \frac{dn_1}{dx} = -g_2 n_1$

$$\frac{dn_1}{n_1} = \frac{g_2}{v} dx \quad n_1 = A e^{\frac{g_2 x}{v}},$$

A – константа интегрирования. Это решение ограничено при $x \rightarrow -\infty$, как и должно быть.

Найдем решение для n_2 , которое удовлетворяет уравнению

$$\begin{aligned} -v \frac{dn_2}{dx} &= \frac{f_1 x}{h} (1 - n_2) - \frac{g_1 x}{h} n_2 - v \frac{dn_2}{dx} + n_2 \left(\frac{g_1 x}{h} + \frac{f_1 x}{h} \right) = \frac{f_1 x}{h} \\ -v \frac{1}{x dx} + \frac{n_2}{dn_2} \left(\frac{g_1}{h} + \frac{f_1}{h} \right) &= \frac{f_1}{h dn_2} - \frac{f_1}{h dn_2} + \frac{n_2}{dn_2} \frac{g_1 + f_1}{h} = \frac{v}{x dx} \\ \frac{n_2(g_1 + f_1) - f_1}{h dn_2} &= \frac{v}{x dx} \frac{h dn_2}{n_2(g_1 + f_1) - f_1} = \frac{x dx}{v} \end{aligned}$$

$$\frac{1}{g_1 + f_1} \ln(n_2(g_1 + f_1) - f_1) = \frac{x^2}{2vh} + B n_2 = \frac{f_1}{g_1 + f_1} + B \exp\left(\frac{x^2(g_1 + f_1)}{2vh}\right)$$

B – константа интегрирования.

ДУ для n_3 имеет вид

$$-v \frac{dn_3}{dx} = -g_1 \frac{x}{h} n_3 \frac{dn_3}{n_3} = g_1 \frac{x}{vh} dx \ln n_3 = g_1 \frac{x^2}{2vh} + C$$

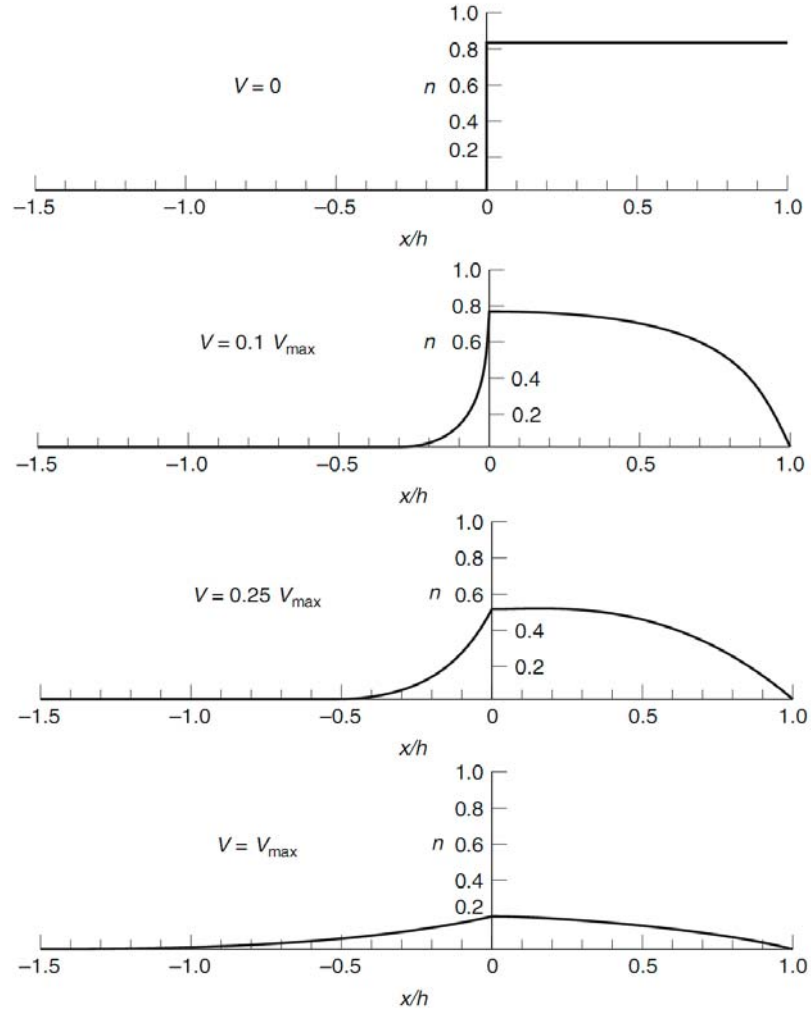


Рис. 8.21. Распределения n в модели Хаксли для различных значений v , построенные в виде функции от безразмерной пространственной переменной x/h [56]

$n_3 = C \exp(\frac{g_1 x^2}{2vh})$ – решение неограничено при $x \rightarrow \infty$ и $v > 0$.

Единственное ограниченное решение этого уравнения – $n_3 = 0$. Это понятно из физических соображений, т.к. мостик не может прикрепиться при $x > h$, когда $v > 0$. Чтобы найти константы A и B , учтем, что решение должно быть непрерывным при $x = 0$ и $x = h$.

$$n_1(0) = n_2(0), \quad n_2(h) = n_3(h) = 0$$

$$n_1(0) = A e^{\frac{g_2^0}{v}} = A$$

$$n_2(0) = \frac{f_1}{g_1 + f_1} + B \exp(\frac{0^2(g_1 + f_1)}{2vh}) = \frac{f_1}{g_1 + f_1} + B$$

$$A = \frac{f_1}{g_1 + f_1} + B$$

$$n_2(h) = \frac{f_1}{g_1 + f_1} + B \exp\left(\frac{h^2(g_1 + f_1)}{2vh}\right) = \frac{f_1}{g_1 + f_1} + B \exp\left(\frac{h(g_1 + f_1)}{2v}\right) = 0$$

$$B = -\frac{f_1}{g_1 + f_1} \exp\left(-\frac{h(g_1 + f_1)}{2v}\right)$$

$$n(x) = \begin{cases} Ae^{\frac{g_2 x}{v}}, x \leq 0 \\ \frac{f_1}{g_1 + f_1} + B \exp\left(\frac{x^2(g_1 + f_1)}{2vh}\right), 0 < x \leq h, \text{ где} \\ 0, x > h \end{cases}$$

$$A = \frac{f_1}{g_1 + f_1} - \frac{f_1}{g_1 + f_1} \exp\left(-\frac{h(g_1 + f_1)}{2v}\right) \quad B = -\frac{f_1}{g_1 + f_1} \exp\left(-\frac{h(g_1 + f_1)}{2v}\right)$$

На рисунке 8.21 приведены решения для четырех значений v .

Параметры модели были подобраны Хаксли таким образом, чтобы модель хорошо удовлетворяла экспериментальным данным.

Предположим, что мостик представляет собой линейно упругую пружинку, т.е. развиваемая им сила упругости $r(x) = kx$, тогда сила, развиваемая мышцей, определяемая формулой $p = \rho k \int_{-\infty}^{+\infty} x \cdot n(x) dx$ может быть вычислена как функция скорости укорочения, и результат можно сравнить с уравнением «сила-скорость» Хилла. Формулу здесь не приводим, она очень громоздкая. Результат сравнения приведен на рисунке 8.22. В результате кривая «сила-скорость» по Хаксли демонстрирует очень хорошее совпадение с экспериментальными данными Хилла. Этот факт стал мощным свидетельством в пользу теории скользящих нитей и циклирования поперечных мостиков как основы силогенерации и укорочения мышцы (модель Хаксли – это упрощенное формализованное представление этой теории).

Наличие x – второй независимой переменной в дополнение к t , как правило, не нужно при решении задач интегративной физиологии. Причем, интегративные физиологические модели сами по себе сложны. Поэтому включение в них дифференциальных уравнений в частных производных

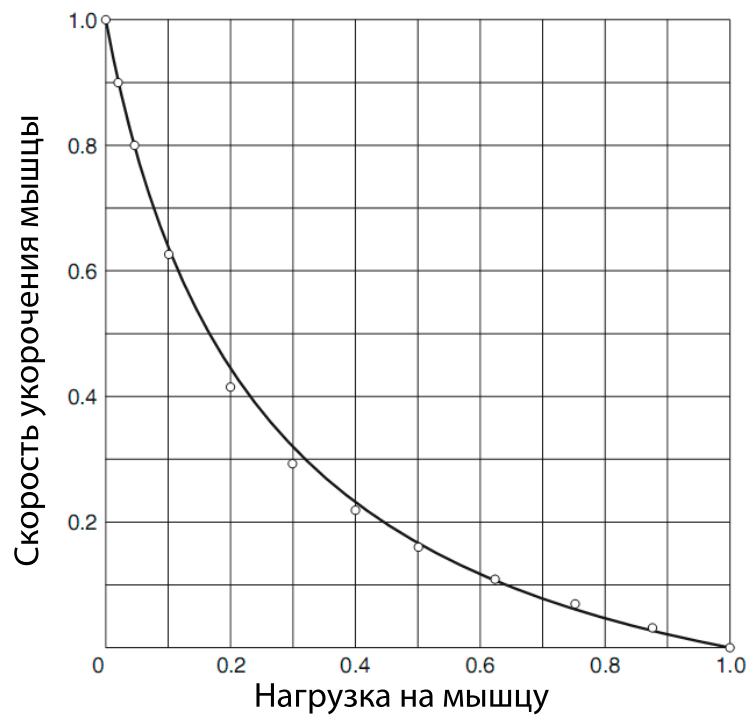


Рис. 8.22. Кривая «сила-скорость» модели Хаксли (сплошная линия) в сравнении с данными Хилла (кружки). Сила проноормирована так, что $p(0) = 1$. Параметры проноормированы так, что $v_{\max} = 1$

— часто nepозволительная роскошь — особенно, если одна из переменных этого д.у. не нужна для решения физиологических задач. Поэтому в таких моделях желательно описывать циклирование поперечных мостиков с помощью ОДУ.

9. МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

Выяснение молекулярно-клеточных механизмов возбуждения и сокращения сердечной мышцы является основой для понимания ее функционирования в норме и патологии, а также для диагностики, прогноза и рациональной терапии заболеваний сердца.

Поскольку миокард – сложная биологическая система, в которой многочисленные внутриклеточные процессы тесно связаны и взаимно влияют друг на друга, построение интегративных моделей электромеханической активности миокарда, верифицированных по отношению к широкому кругу известных экспериментальных данных и предназначенных для выяснения причинно-следственных связей между механическими и электрическими явлениями в кардиомиоцитах и, тем более, количественного анализа чувствительности миокардиальной системы к возможной вариации (нормальной или патологической) параметров внутренних процессов или внешних условий ее функционирования является актуальной задачей математической физиологии.

Математическое моделирование электромеханических процессов в сердечной мышце стало возможным благодаря ряду обстоятельств. Во-первых, многочисленные электронно-микроскопические исследования позволили идентифицировать внутриклеточные структуры, ответственные за контрактильные процессы в кардиомиоцитах. Удалось также установить морфологический субстрат сопряжения возбуждения с сокращением. Важным моментом также явилось определение пространственных отношений между элементами аппарата сопряжения возбуждения с сокращением и количественных соотношений между этими элементами. Специальные физиологические эксперименты позволили определить характер физиологических процессов и их локализацию в сократительных белках и аппарате электромеханического сопряжения, а также закономерности их протекания во времени. В итоге все это позволило кристаллизовать гибкую схему

физико-химических процессов, протекающую в пространстве и во времени и регулируемую контрактильный акт кардиомиоцитов.

Во-вторых, тщательные высокоточные исследования на изолированных внутриклеточных структурах (регуляторных белках актиновых нитей, рибанодинных каналах терминальных цистерн саркоплазматического ретикулума и кальциевых насосах продольного ретикулума, одиночных ионных каналах сарколеммы) позволили определить ряд важных констант, характеризующих кинетические процессы в этих структурах. Первое и второе обстоятельства обеспечивали описание физико-химических процессов, регулирующих контрактильный акт, на языке дифференциальных уравнений.

И, наконец, третье обстоятельство, позволившее моделировать физиологические процессы в сердечной мышце, — это, конечно, создание мощной вычислительной техники.

Обычно первое и притом не самое сильное требование, которое предъявляют математической модели, состоит в ее способности при заданном наборе констант правильно описывать некоторое экспериментальное наблюдение. Более сильное требование заключается в том, чтобы при данном наборе констант модель описывала не одно, а широкий класс явлений. В идеале весь класс явлений (например, многочисленные экспериментальные факты, установленные при биомеханических исследованиях изолированной сердечной мышцы).

Однако существует еще более сильное требование, предъявляемое математической модели: она должна предсказывать новые, не известные ранее явления, которые могут быть проверены экспериментально. Другими словами, модель должна быть источником гипотез, притом конкретных, экспериментально верифицируемых гипотез. В принципе эвристический потенциал модели может быть обнаружен двумя путями. Во-первых, при численных экспериментах, направленных для описания данного класса явлений, может выясниться, что при определенных условиях возникает неожиданный или контринтуитивный результат. Во-вторых, модель заведомо может

быть поставлена в условия, физиологически значимые, но для описания которых она не была исходно предназначена. В этих условиях в рамках модели может быть установлен новый, не известный ранее класс эффектов, которые далее должны быть проверены экспериментально. Экспериментальное подтверждение результатов численного моделирования в этом случае является мощным источником верификации исходной модели.

Далее мы проиллюстрируем, как фундаментальные электромеханические процессы в клетках сердечной мышцы могут быть эффективно описаны на математическом языке. Мы покажем, как много полезного может дать математическое моделирование для выяснения возможных молекулярных механизмов регуляции сократительной функции сердечной мышцы. Наконец, мы продемонстрируем потенциал математического моделирования в качестве уникального инструмента для установления нового класса явлений в сердечной мышце и выяснения молекулярно-клеточных механизмов этих явлений.

9.1. Схема электромеханического сопряжения в сердечной клетке

Хорошо известно, что механический ответ мышцы тесно связан с электрическими явлениями в ней благодаря совокупности внутриклеточных процессов, объединенных традиционным названием «сопряжение возбуждения с сокращением» (excitation-contraction coupling) [39, 54] или термином «электромеханическое сопряжение» (ЭМС), который используется в российской литературе. В традиционной схеме ЭМС центральная роль в обеспечении прямой связи между электрическим сигналом и механической реакцией общепризнанно принадлежит ионам кальция (Ca^{2+}).

На рисунке 9.1 приведена реконструкция сердечной клетки, полученная на основании электронной микроскопии. Основными сократительными единицами сердечной клетки являются саркомеры – упорядоченные структуры из толстых и тонких белковых нитей, которые формируют регулярную прямоугольную форму клетки и создают ее характерную поперечно-

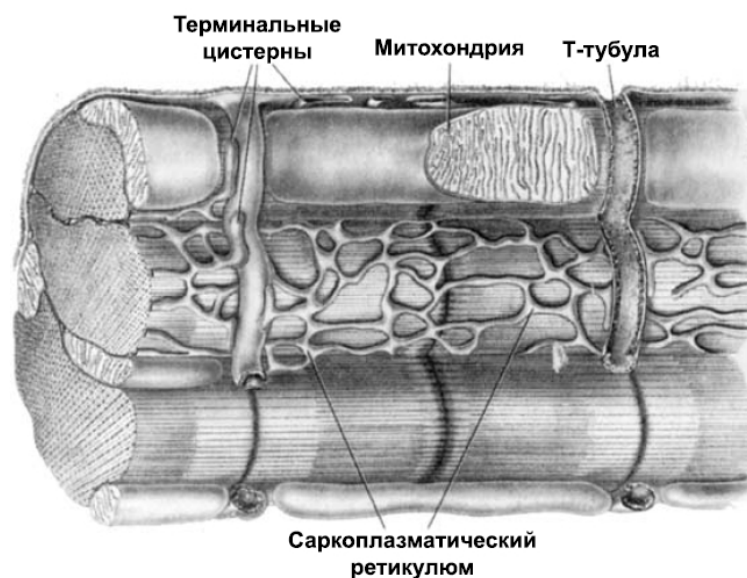


Рис. 9.1. Схематическая реконструкция структуры волокна сердечной мышцы [39]. Показаны Т-трубочки и сеть СР, включая терминальные цистерны, ассоциированные с миофибриллами

полосатую исчерченность. В основе сократительной функции сердечных клеток лежит кинетика поперечных мостиков — головок миозина, взаимодействующих с активными центрами на актиновых нитях. Известно, что в процессе активации актиновых центров на тонкой нити принимают участие регуляторные белки, входящие в тропонин-тропомиозиновый комплекс. В состоянии покоя (в бескальциевой среде) молекулы тропомиозина, лежащие вдоль бороздок актиновой нити, препятствуют образованию акто-миозиновых комплексов. Для того чтобы взаимодействие актина и миозина стало возможным, требуется участие Ca^{2+} в достаточной концентрации. Присоединение Ca^{2+} молекулами специфического тропонина С (ТnC) приводит к конформации тропонинового комплекса и изменению аксиального положения тропомиозиновой нити, что и открывает доступ для поперечных мостиков к актиновым центрам.

В качестве внутриклеточного депо Ca^{2+} , который активирует сократительные белки в сердечных клетках, служит сеть саркоплазматического ретикулума (СР) (см. рис. 9.1). СР представляет собой разветвленную систему пронизывающих клетку трубочек, в которых морфологически выделяют два отдела: терминальные цистерны (ТЦ) (или контактный ретикулум),

контактирующие с Т-трубочками – впячиваниями мембраны внутрь клетки (фрагмент мембраны с Т-трубочкой изображен на рисунке 9.1 и 9.2), и продольный ретикулум (ПР) (или ретикулярная сеть), располагающийся внутри всего объема клетки и окружающий саркомеры. Функционально ТЦ и ПР также имеют различное назначение – на мембране ТЦ находятся рианодиновые рецепторы (RyR) – каналы, через которые Ca^{2+} высвобождается из СР в саркоплазму, а на мембране ПР расположены Ca^{2+} -АТФазы ретикулярного насоса, обеспечивающего обратную транслокацию Ca^{2+} из саркоплазмы в СР. Кроме того, в ТЦ сосредоточены молекулы белка кальсеквестрина (CaS), имеющего большую емкость и низкое сродство к кальцию [39], так что кальций в ТЦ находится в преимущественно связанной форме с CaS, что к тому же способствует направленному потоку свободного кальция внутри СР из сети СР в сторону ТЦ.

Остановимся кратко на описании цепочки биохимических событий в сердечных клетках, приводящих к формированию сократительного ответа сердечной мышцы.

На рисунке 9.2 приведена схема участников процесса электромеханического сопряжения в сердечной клетке. Процесс возбуждения клетки обеспечивается возникновением относительно кратковременного специфического изменения разности потенциалов на мембране клетки – потенциала действия (ПД) (см. рис. 9.2). ПД имеет несколько фаз развития, начиная с фазы быстрой деполяризации мембраны и заканчивая реполяризацией к исходному уровню потенциала покоя, и занимает приблизительно третью часть длительности сократительного цикла в клетках рабочего миокарда. Конфигурация и длительность ПД зависят не только от типа сердечных клеток, существенно отличаясь в клетках синусного узла, волокнах Пуркинье, предсердии или желудочке [54], но и существенно различаются в зависимости от локализации клеток в рамках одной камеры сердца, например, в различных трансмуральных слоях или продольных участках стенки желудочка [42]. Кроме того, характеристики ПД сильно варьируют в зависимости от вида животных. Так, длительность ПД в клетках желудочка

The diagram illustrates the complex regulation of intracellular calcium levels. It shows the cell membrane with various transporters: i_{NaCa} (Na/Ca exchanger), i_{NaK} (Na/K ATPase), i_{MSC} (Na/K ATPase), and i_{Na} (Na channels). The sarcoplasmic reticulum (SR) is shown with i_{CaL} (L-type Ca channels), i_{bCa} (background Ca channels), and i_{NaCa} (Na/Ca exchanger). The SR membrane contains the Ca^{2+} pump (ATPase), Ca^{2+} release channels (RyR), and Ca^{2+} uptake channels (SERCA). The diagram also shows the release of Ca^{2+} from the SR into the cytoplasm, where it can bind to troponin (Tn) to initiate contraction. The graph shows the membrane potential (PD) and the concentration of free calcium ($[Ca^{2+}]$) over time. The solid blue line represents the membrane potential, which drops during contraction. The solid red line represents the concentration of free calcium, which rises sharply during contraction. The dashed red line represents the concentration of calcium bound to troponin, which rises more slowly and remains elevated for a longer duration. The x-axis is labeled "200 мс" (200 ms).

Изменение мембранного потенциала определяется совокупностью ионных (в основном, Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) токов через мембрану через различные специфические и неспецифические мембранные каналы, обменники, насосы (см. рис. 9.2). В свою очередь мембранный потенциал влияет на величину и направление этих токов, изменяя проводимость мембраны к тем или иным ионам.

Поскольку в покое большая часть внутриклеточного Ca^{2+} находится в СР, концентрация свободного кальция Ca^{2+} в саркоплазме ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) – низкая $\sim 0.1 \mu\text{M}$. При деполяризации мембраны происходит активация кальциевых каналов L-типа на мембране клетки, преимущественно локализованных в Т-трубочках. С одной стороны, внутрь направленный Ca^{2+} -ток через L-каналы i_{CaL} существен для поддержания положительного мембран-

ного потенциала и играет важную роль в формировании плато ПД в клетках желудочка. С другой стороны, поступление относительно небольшого количества ионов Ca^{2+} в субпространство (или *диадическое пространство*), объединяющее L-каналы с расположенными в непосредственной близости высвобождающими RyR каналами контактного СР, стимулирует активацию и открытие этих каналов и запускает лавинообразный процесс высвобождения Ca^{2+} из СР – так называемый процесс кальцием вызванного высвобождения кальция (КВВК) [39]. Отношение количества кальция, высвобождающегося в цитозоль из СР ($\sim 100 \mu\text{M}$), к количеству кальция, поступающего через L-каналы ($\sim 10 \mu\text{M}$), называется в литературе коэффициентом усиления КВВК и варьирует в клетках разных видов животных, например, от 5:3 у морской свинки до 10:1 у крысы [39]. При этом коэффициент усиления может существенно увеличиваться при увеличении уровня Ca^{2+} в СР. Поскольку процесс КВВК преимущественно обеспечивает увеличение концентрации Ca^{2+} в саркоплазме клетки, необходимое для формирования сократительного ответа, регуляция этого процесса имеет исключительное значение в обеспечении функции клетки. Контроль КВВК происходит на уровне локальных подпространств и вовлекает тонкие механизмы взаимодействия L- и RyR-каналов [82, 87].

Итак, приток Ca^{2+} в клетку через L-каналы и вызванный им мощный поток из СР приводят к резкому и существенному повышению $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (на 2 порядка величин с $0.1 \mu\text{M}$ до $1 \mu\text{M}$). Характерное изменение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в течение сократительного цикла, называемое *Ca^{2+} переходом* (Ca^{2+} transient), изображено на рисунке 9.2. Видно, что Ca^{2+} переход имеет некоторый сдвиг по времени развития и длительности по отношению к генерации ПД. Некоторый вклад в увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ вносит также и Na^+ - Ca^{2+} обменный ток (i_{NaCa}) в фазу *reverse-mode*, когда величина мембранного потенциала превышает потенциал реверсии для обменника, и 1 ион Ca^{2+} поступает в клетку в обмен на 3 иона Na^+ , транслоцируемые из клетки. Роль этого тока в качестве потенциального триггера КВВК до сих пор обсуждается, но большинство исследователей придерживаются мнения о приоритетной ро-

ли i_{CaL} в этом процессе [81]. В то же время количество кальция, поступающего в клетку с i_{NaCa} , оценивается как сравнимое с интегралом i_{CaL} (см. там же), поэтому i_{NaCa} может играть определенную роль в регуляции соотношения входа-выхода Ca^{2+} в течение одиночного цикла и поддержании его гомеостаза в клетке. Кроме того, i_{NaCa} не только зависит от мембранного потенциала, но и в силу своей электрогенности может влиять на его изменение. Как будет показано ниже, в обратную фазу работы обменника (*reverse-mode*) ток i_{NaCa} может оказаться достаточно чувствительным к временному ходу изменения $[Ca^{2+}]_i$ и благодаря этому существенно влиять на длительность фазы плато ПД.

Далее, резкий рост $[Ca^{2+}]_i$ вблизи саркомеров приводит к образованию комплексов Ca^{2+} с TnC (Ca-TnC). Благодаря этому происходит конформация тропонин-тропомиозинового комплекса и дерепрессия свободных центров на актине, доступных для связывания с головками миозина, т.е. к образованию поперечных мостиков между актином и миозином. Дальнейшая конформация прикрепленных мостиков (переход из слабо- в сильно-связанное или силогенерирующее состояние) обеспечивает генерацию напряжения в саркомере и скольжение тонких (актиновых) нитей относительно толстых (миозиновых), что приводит к укорочению саркомера [54]. Таким образом, кальций-зависимая (а именно, зависимость от концентрации Ca-TnC комплексов ($[Ca_{TnC}]$)) кинетика прикрепления-открепления мостиков определяет сократительный цикл саркомера.

Расслабление мышцы происходит вследствие выведения Ca^{2+} из поля реакции. Это происходит двумя путями: большая часть кальция транслоцируется насосами СР обратно в сеть СР, а оставшаяся часть выводится из клетки частично при помощи кальциевой АТФазы сарколеммы, а в основном благодаря Na^+-Ca^{2+} обмену в прямую фазу работы обменника (*forward-mode*), когда Ca^{2+} выводится из клетки в обмен на поступление Na^+ .

Таким образом, в соответствии с приведенной классической схемой электромеханического сопряжения генерация силы и укорочение в течение

цикла сокращение-расслабление мышцы определяются кинетикой поперечных мостиков, число которых определяется кинетикой Ca-TnC комплексов. Ключевую роль в электромеханическом сопряжении играет СР, а также согласованная работа кальциевых каналов, обменников и АТФаз, которые обеспечивают циклическое изменение концентрации Ca^{2+} в саркоплазме, а также тонкую регуляцию общего содержания Ca^{2+} в клетке в зависимости от условий сокращения сердечной мышцы.

9.2. Механо-электрическая обратная связь в миокарде

Итак, схема электромеханического сопряжения или прямая зависимость между электрическими явлениями в миокарде и его механической функцией, опосредованная изменением $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах (потенциал $\mapsto \text{Ca}^{2+}$ переход \mapsto механический ответ), является общепринятой. Относительно недавно (см., напр., обзоры [17, 61]) в физиологии сердечной мышцы начала формироваться концепция о наличии контура обратной связи в схеме электромеханического сопряжения и значимости обратной связи между механическими и электрическими явлениями в регуляции функции миокарда. Состояние проблемы механо-электрического сопряжения и основные достижения в этой области нашли отражение в международной коллективной монографии «Сердечная механо-электрическая обратная связь. От пипетки к пациенту» под редакцией П. Коля, Ф. Сакса, М. Франца [59]) и ее недавнем втором издании [60], одна из глав в каждой из которой написана В.С. Мархасиным и О.Э. Соловьевой с соавторами [67, 68].

Поскольку феномен механо-электрической обратной связи в регуляции функции миокарда только в последнее время начал активно обсуждаться физиологами и еще не нашел достаточного отражения в русскоязычной литературе (нам известна лишь одна монография А.Г. Камкина и др. «Механо-электрическая обратная связь в сердце» [11] и глава в учебнике под редакцией А.Г. Камкина и А.А. Каменского [12] на эту тему), мы остановимся на обзоре состояния этой проблемы более подробно.

В 1915 г. Ф. Бэинбридж (F. Bainbridge) опубликовал результаты экспери-

ментов, демонстрирующих механически вызванное увеличение сердечного ритма [38]. По-видимому, впервые понятие «механо-электрическая обратная связь» (в оригинале *Mechano-electrische Ruckkoppelung*, нем.) применительно к регуляции функции сердечной мышцы было предложено в 1967 г. Р. Кауфманом (R. Kaufmann) и У. Теофил (U. Theophile), продемонстрировавшими усиление спонтанной и эктопической автоматии на мультиклеточных препаратах предсердия и желудочков (см. [59]). Появление аритмии при ударе в грудь без повреждения сердечной ткани – *Commotio Cordis* – впервые было описано в работе Ф. Ридингера (F. Riedinger) 1982 г. (см. [59]). В дальнейшем были получены многочисленные экспериментальные свидетельства влияния механических условий сокращения миокарда на его электрическую функцию (см. ниже). Однако механизмы, лежащие в основе феноменов обратной связи и ее физиологическая и патофизиологическая значимость до сих пор являются предметом интенсивных исследований.

Механо-электрическое сопряжение. В конце 70-х и в 80-е годы были получены многочисленные экспериментальные свидетельства существования обратной связи между механическими условиями сокращения сердечной мышцы и формой и длительностью ПД. Было найдено, что длительность ПД (ДПД) возрастает, когда мышца укорачивается под меньшей постнагрузкой [63]. Напротив, увеличение начальной длины мышцы приводит к укорочению ПД [55, 63].

Наибольшее внимание исследователей, особенно в последнее время, привлечено к изучению влияния растяжения препарата (*stretch*) на его электрическую активность. Это, вероятно, вызвано поиском механизмов возникновения аритмий, наблюдающихся на фоне увеличения объема сердца (и как следствие возможного растяжения сердечных клеток) при перегрузке давлением, а также при резкой локальной деформации сердца. В частности, описанные в клинике случаи внезапной смерти при ударе в грудь (*Commotio Cordis*) связывают с такими не повреждающими ткани деформациями (предположительно растяжением) миокарда [59].

Влияние укорочения на электрическую активность кардиомиоцитов менее изучено. В то же время еще в работах группы Р. Кауфманна было показано, что скорость и длительность укорочения, а также фаза сердечного цикла, в которую осуществляется навязанное укорочение, существенно влияют на длительность ПД [55, 63]. В частности, резкое укорочение сердечной мышцы в фазу завершения ПД (в фазу быстрой реполяризации) также может вызывать внеочередное возбуждение, как и ступенчатое растяжение. Вместе с тем в интактном сердце в физиологическом диапазоне постнагрузок не было обнаружено увеличения длительности ПД в фазу выброса [45].

Механо-химическая обратная связь. В другой группе экспериментов с прямой регистрацией $[Ca^{2+}]_i$ было установлено, что временной ход изменения концентрации свободного Ca^{2+} в цитозоле в процессе сокращения меняется при переключении от изометрического режима сокращений к изотоническому и обратно [63], а также в зависимости от степени растяжения препарата в изометрическом режиме сокращений [36, 37]. В ответ на кратковременные деформации (укорочение или растяжение) мышцы в процессе сокращения наблюдался дополнительный всплеск концентрации Ca^{2+} в цитозоле, свидетельствующий о дополнительном механически вызванном высвобождении кальция из некоторых источников. Кроме того, в экспериментах на скинированных волокнах сердечной мышцы было показано, что стационарная связь кальция – сила (зависимость стационарной силы, генерируемой мышцей, от постоянной концентрации Ca^{2+} в растворе) зависит от длины препарата.

Было высказано предположение, что сродство TnC к кальцию меняется при изменении механических условий, в частности, оно падает при укорочении мышцы и зависит от скорости укорочения. Это положение было подтверждено рядом экспериментальных работ (см., например, обзор [71]). Оно также было проверено в ряде математических моделей (см. ниже о моделировании кооперативных механизмов активации сократительных белков), где учет кооперативных механизмов активации сократительных бел-

ков позволил в рамках моделей описать широкий класс механических явлений в изолированных мультиклеточных препаратах.

Кинетика кальция — звено механо-электрической обратной связи. В экспериментах с одновременной регистрацией Ca^{2+} свечения и ПД был выявлен существенный параллелизм изменения длительности Ca^{2+} перехода и длительности ПД, что позволило высказать предположение о тесной связи этих явлений. Многие авторы пришли к выводу, что механозависимая кинетика внутриклеточного Ca^{2+} через влияние на кальций-чувствительные токи (в частности, токи через каналы L-типа или через Na^+ - Ca^{2+} обменники), может лежать в основе обратной связи между сокращением и возбуждением (см. обзоры [61, 62]).

Механочувствительные каналы. Вместе с тем открытие механочувствительных каналов (МЧК), которые вначале называли стретч-активируемыми каналами, поскольку они были обнаружены в экспериментах с растяжением препаратов миокарда, явилось новым толчком в исследовании связи между механическими условиями сокращения кардиомиоцитов и электрическими явлениями в них. Выяснилось, что растяжение кардиомиоцитов желудочков сопровождается деполяризующим током, величина которого зависит от величины растяжения. Было найдено, что вклад МЧК в механозависимое изменение длительности ПД существенно зависит от момента деформации кардиомиоцитов. Если клетки растягиваются во время ранней реполяризации ПД, то ПД укорачивался, однако такая же деформация в более позднюю фазу реполяризации увеличивает ДПД [93]. Более того, было показано, что резкое растяжение после реполяризации ПД в определенных условиях может порождать преждевременные ПД, что указывает на то, что деформации миокарда могут служить источником нарушений ритма [93].

Приведенные данные показывают, что между потенциальными механизмами реализации механо-электрической связи — механозависимой кинетикой Ca^{2+} и активностью механочувствительных каналов, — должна быть тесная связь, и влияние механического воздействия на эти два контура об-

ратной связи может быть как одно-, так и противоположнонаправленными. Ниже мы приведем примеры с различным вкладом указанных механизмов в генерацию ПД в рамках математической модели.

9.3. ЕО-модель электромеханического сопряжения в кардиомиоците

Поскольку многочисленные внутриклеточные процессы, участвующие в электромеханическом сопряжении и в механо-электрической обратной связи тесно связаны и взаимно влияют друг на друга, поиск механизмов механо-электрического сопряжения в физиологическом эксперименте крайне затруднен. Поэтому математические модели являются уникальным инструментом для выяснения причинно-следственных связей между механическими и электрическими явлениями в кардиомиоцитах.

Объединенная модель электромеханического сопряжения в клетках сердечной мышцы была получена в результате объединения механического блока, разработанного в Екатеринбурге в лаборатории математической физиологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН [83] на основе более ранней версии механической модели [49, 51], и электрического блока, разработанного в лаборатории физиологии Оксфордского университета под руководством профессора Д. Нобла [75].

Эта модель получила название «Екатеринбург-Оксфорд» (ЕО-модель) по названию городов, где работают группы ее разработчиков, и ссылки на ЕО-model имеются в публикациях в международных журналах (см. например, обзор электромеханических моделей кардиомиоцитов в работе [89]).

ЕО-модель описывает взаимосвязанные электрические, химические и механические процессы, протекающие в кардиомиоцитах в течение сокра-

ТИТЕЛЬНОГО ЦИКЛА:

$$\begin{aligned} \frac{dE}{dt} = & -\frac{1}{C_m} \cdot (i_{stim} + i_{Na} + i_{to} + i_{CaL} + i_{pNa} + i_{NaCa} + \\ & + i_{MSC} + i_K + i_{K1} + i_p + i_{bNa} + i_{bCa}), \end{aligned} \quad (9.1)$$

$$\begin{aligned} \dots \\ \frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt} = & \sum_k J_{i_k, Ca} + J_D + J_{rel} - J_{pump} - \frac{d[Ca_{TnC}]}{dt} - \\ & - \sum_j \frac{d[Ca_{B_j}]}{dt}, \end{aligned} \quad (9.2)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[Ca_{TnC}]}{dt} = & k_{on} \cdot ([TnC_{tot}] - [Ca_{TnC}]) \cdot [Ca^{2+}]_i - \\ & - k_{off}(N, [Ca_{TnC}]) \cdot [Ca_{TnC}], \end{aligned} \quad (9.3)$$

$$\begin{aligned} \dots \\ \frac{dN}{dt} = & k_+([Ca_{TnC}], L_{CE}, \frac{dL_{CE}}{dt}) \cdot (1 - N) - \\ & - k_-(\frac{dL_{CE}}{dt}) \cdot N, \end{aligned} \quad (9.4)$$

$$\frac{dL_{CE}}{dt} = f(N, L_{CE}, L), \quad (9.5)$$

$$\frac{dL}{dt} = g(N, L_{CE}, L). \quad (9.6)$$

Здесь перечислены только основные уравнения системы. Полная система уравнений состоит из 25 уравнений [84]. Полный список уравнений вместе с функциями, используемыми в правых частях уравнений, а также таблица значений параметров и начальных данных модели содержатся в работе [84], а также могут быть найдены на сайте <http://models.cellml.org/e/b9/> в виде описания, выполненного при помощи специализированного языка CellML, который можно использовать в среде Cellular Open Resource (см. сайт <http://cor.physiol.ox.ac.uk/> и статью [44], посвященную этому ресурсу).

Опишем подробнее каждое уравнение в системе (9.1)—(9.6).

9.3.1. Возбуждение кардиомиоцитов

Возбуждение кардиомиоцитов, т.е. специфическое изменение мембранного потенциала E – *потенциал действия* (ПД), происходит благодаря активации-инактивации разнообразных входящих и выходящих ионных токов i_k через сарколемму (см. уравнение (9.1)).

Как было упомянуто выше электрофизиологическая модель кардиомиоцита была разработана профессором Д. Ноблом из Оксфордского университета, прямым учеником А. Хаксли, одного из авторов классической модели Ходжкина-Хаксли возбуждения нервной клетки, которую мы рассмотрели в разделе 7. Д. Нобл первым адаптировал идеи и формализмы МХХ для построения моделей возбуждения различных сердечных клеток. Первая модель Д. Нобла 1962 г. [74] описывала потенциал действия в волокнах Пуркинье – клетках специализированной проводящей системы сердца. В ЕО-модели используется модифицированная модель клеток желудочка сердца морской свинки 1998 г. [75], которая опирается на более ранние работы этого автора, затем она была развита в последующих работах, а также адаптирована другими авторами к описанию особенностей возбуждения клеток желудочка других видов животных или для сердечных клеток другого типа.

Видно, что уравнение (9.1) для мембранного потенциала имеет такой же вид, как уравнение в МХХ, только в соответствии с экспериментальными данными более детализировано описание токов через мембрану.

Напомним, что под термином «входящий/выходящий ионный ток» подразумевается приток/отток положительных зарядов внутрь/наружу клетки. В электрофизиологии входящий деполяризующий ток считается отрицательным, а выходящий реполяризующий – положительным.

В модели учтены: быстрый натриевый ток i_{Na} через Na^+ каналы, кратковременный выходящий калиевый ток i_{to} , внутрь направленный кальциевый ток i_{CaL} через каналы L-типа, персистирующий натриевый ток i_{pNa} , калиевые задержанный ток i_K и ток аномального выпрямления i_{K1} , Na^+ -

Ca^{2+} обменный ток i_{NaCa} и ток i_{MSC} через механочувствительные каналы (оба способные менять полярность), Na^+ - K^+ обменный ток i_p , Na^+ и Ca^{2+} фоновые токи i_{bNa} и i_{bCa} , активация которых в определенной очередности и комбинации определяет специфическую форму ПД в кардиомиоцитах желудочка (см. рис. 9.4).

Описание ионных токов, как и МХХ, опирается либо на линейную модель ВАХ, либо используется модель Голдмана-Ходжкина-Каца. Описание кинетики регуляторных частиц, формирующих проводимость ионных каналов, зависит от доступности соответствующих экспериментальных данных и опирается на аналогичные подходы, как были использованы в МХХ.

Ионные токи i_k в правой части уравнения (9.1) есть существенно нелинейные функции, зависящие от величины E и концентраций ионов Ca^{2+} , Na^+ и K^+ внутри и вне клетки (часть из которых является фазовыми переменными системы, как $[\text{Ca}^{2+}]_i$, см. уравнение (9.2)), а также ряда вспомогательных переменных [75].

Так, например, ряд токов i_k , переносящих ионы X через специфические ионные каналы, в частности, калиевые токи i_K и др., описываются формулами вида:

$$i_k = g_k \cdot (E - E_X),$$

где

$$g_k = \overline{g}_k \cdot p_k(E; [X]_i; [X]_o)$$

определяется в результате решения вспомогательной системы для определения проводимости ионного канала, а E_X - потенциал Нернста для ионов X (см. раздел 7).

Токи, создаваемые молекулярными обменными механизмами и насосами, транслоцируют ионы против градиентов концентраций либо за счет обмена с другими ионами, например, Na^+ - Ca^{2+} обменный ток i_{NaCa} , либо за счет расходования энергии АТФ, например, Na^+ - K^+ ток i_p через Na^+ - K^+ АТФазу (см. раздел 7). Их активность также зависит от текущего потенциала E и концентраций транспортируемых ионов.

Наиболее важную роль в *сопряжении возбуждения с сокращением* играют *потенциал-зависимые* и вместе с тем *кальций-зависимые* токи: внутрь направленный кальциевый ток i_{CaL} через каналы L-типа и Na^+ - Ca^{2+} обменный ток i_{NaCa} . Ток i_{CaL} является триггером для кальцием-вызванного высвобождения кальция из саркоплазматического ретикулюма (СР), в результате которого происходит эффективное повышение концентрации кальция в саркоплазме и активируются сократительные белки. Ток i_{NaCa} в основном (или прямом) режиме работы обменника, когда ионы Ca^{2+} выводятся из клетки в обмен на поступление ионов Na^+ , является основным механизмом выведения кальция из клетки в фазу расслабления, что обеспечивает баланс входа-выхода кальция в течение сократительного цикла и гомеостаз этого иона в кардиомиоцитах.

Таким образом, оба этих тока оказывают существенное влияние на **изменение концентрации свободного кальция в саркоплазме** или так называемый Ca^{2+} *переход*, который описывается в модели отдельным кинетическим уравнением.

Выше мы обратили внимание на возможную роль механо-чувствительных каналов (МЧК) в механо-электрической обратной связи в сердечных клетках. Чтобы исследовать этот вопрос, в модели был учтен ток i_{MSC} через неселективные МЧК. Он описывается весьма упрощенно, феноменологически [57], поскольку структура и механизмы работы МЧК до сих пор детально не изучены:

$$i_{MSC} = g_{MSC} \cdot \frac{1}{1 + K_{MSC} \cdot e^{-\gamma_{MSC} \cdot (L - L_{ref})}} \cdot (E - E_{MSC}), \quad (9.7)$$

где $E_{MSC} = -20$ мВ – потенциал реверсии для МЧК; g_{MSC} – максимальная проводимость МЧК. Активация каналов после изменения длины клетки описывается при помощи множителя, зависящего от отклонения текущей длины препарата L от некоторой фиксированной реферативной длины L_{ref} ; γ_{MSC} и K_{MSC} – параметры чувствительности тока к изменению длины.

9.3.2. Кинетика кальция в кардиомиоцитах

Ca^{2+} переход, т.е. динамическое изменение концентрации свободного внутриклеточного кальция в клетке $[\text{Ca}^{2+}]_i$, формируется за счет входа-выхода Ca^{2+} в клетку через сарколемму, рециркуляции Ca^{2+} между саркоплазмой и СР и взаимодействия Ca^{2+} с кальций-буферной системой (см. уравнение (9.2) для $[\text{Ca}^{2+}]_i$)).

В уравнении (9.2) учтены:

- *потоки кальция через сарколемму*

$$J_{i_k, \text{Ca}} = \pm |i_{k, \text{Ca}}| / (2V_{\text{cyt}}F),$$

где i_k – Ca^{2+} ток, знак потока определяется направлением движения ионов, V_{cyt} – объем цитозоля, F – число Фарадея;

- *диффузия кальция из диадического пространства, объединяющего каналы L-типа с высвобождающими каналами СР*

$$J_D = k_D \cdot ([\text{Ca}^{2+}]_{DS} - [\text{Ca}^{2+}]_i),$$

где $[\text{Ca}^{2+}]_{DS}$ – концентрация кальция в диадическом пространстве, которая определяется притоком кальция с током i_{CaL} ;

- *обмен кальция с СР*

$$J_{\text{rel}} = k_{\text{rel}}([\text{Ca}^{2+}]_i, [\text{Ca}^{2+}]_{DS}) \cdot [\text{Ca}^{2+}]_{TC},$$

т.е. кратковременный и интенсивный поток Ca^{2+} , высвобождающегося из терминальных цистерн СР пропорционально градиенту концентрации (т.е. $\propto [\text{Ca}^{2+}]_{TC}$) в ответ на резкое увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_{DS}$ в диадическом пространстве во время возбуждения, он обеспечивает основное количество кальция, необходимое для активации сократительных бел-

КОВ,

$$J_{pump}([Ca^{2+}]_i, [Ca^{2+}]_{LR})$$

– поток Ca^{2+} , поглощаемого насосами СР, он зависит от концентрации кальция снаружи и внутри СР и в основном определяет процесс расслабления);

- *взаимодействие кальция с кальций-связывающими лигандами B_j* ($\frac{d[Ca_{B_j}]}{dt}$), включая регуляторный белок тропонин С ($\frac{d[Ca_{TnC}]}{dt}$).

Блок описания кальциевой динамики объединенной модели претерпел наибольшие модификации по сравнению с исходными механической [51] и электрофизиологической моделями [75]. В частности, в нем было модифицировано описание поглощения кальция в СР с учетом обратного аллостерического ингибирования насосов СР при увеличении концентрации кальция в поглощающем отсеке СР и добавлено описание кинетики кальция внутри СР; проведено исследование кальций-буферной системы и благодаря использованию рекуррентных методов идентификации параметров нелинейных динамических систем было получено обобщенное описание буферной системы, используемое в объединенной электромеханической модели [84].

Кроме этого были уточнены многие параметры моделируемых процессов для более адекватного описания временного хода Ca^{2+} перехода и соотношения потоков кальция через сарколемму и через мембрану СР [84].

9.3.3. Активация сократительных белков

Изменение $[Ca^{2+}]_i$ непосредственно влияет на механические процессы в кардиомиоцитах. Взаимодействие кальция с регуляторным белком тропонином С (ТnC) (см. уравнение (9.3), описывающее изменение концентрации Са-ТnC комплекса $[Ca_{TnC}]$) обуславливает активацию сократительных белков саркомеров и образование силогенерирующих мостиков между актином

и миозином.

В отличие от мостиковой модели Хаксли, описывающей кинетику поперечных мостиков с учетом их пространственного расположения по отношению к местам связывания на актине (см. описание модели Хаксли в разделе 7), в ЕО-модели описываются только два возможных состояния мостика - силогенерирующее и несилогенерирующее и переходы между ними, при этом уравнение записывается для средней на саркомер доли силогенерирующих мостиков N (см. уравнение (9.4)).

В уравнении (9.4) отражены следующие важные механизмы активации сократительных белков.

- Доля присоединенных мостиков определяется числом мест на актине (N_A), доступных для взаимодействия с головками миозина, и вероятностью (n) присоединения мостика к этим местам. N_A зависит от усредненной концентрации комплексов кальция с тропонином С ($[Ca_{TnC}]$) и длины зоны одинарного перекрытия тонких и толстых волокон миофибрилл, т.е. зависит от длины саркомера L_{CE} .
- Вероятность n зависит от расстояния между тонкими и толстыми нитями саркомера (*lattice spacing*), которое также зависит от длины саркомера L_{CE} и от скорости изменения длины саркомера dL_{CE}/dt .

Все эти механизмы отражены в сложной зависимости скоростей образования-распада силогенерирующих мостиков, $k_+([Ca_{TnC}], L_{CE}, dL_{CE}/dt)$ и $k_-(dL_{CE}/dt)$, от перечисленных величин [52], благодаря чему не только кинетика поперечных мостиков напрямую влияет на механические параметры состояния саркомера, но и сама зависит от них (см. уравнения (9.4)—(9.5)).

В численных экспериментах, результаты которых представлены в данном разделе, использовалось более упрощенное описание активации сокра-

тительных белков в виде алгебраического уравнения для N [51]:

$$N = N_A ([Ca_{TnC}], L_{CE}) \cdot n, \quad (9.8)$$

где $n = n_1(L_{CE}) \cdot n_2$, n_1 – вероятность найти головкам миозина близлежащий активный центр, зависящая от длины саркомера L_{CE} , и n_2 – условная вероятность присоединиться к найденному центру, которая описывается уравнением:

$$dn_2/dt = k_+(dL_{CE}/dt) \cdot (1 - n_2) - k_-(dL_{CE}/dt) \cdot n_2. \quad (9.9)$$

9.3.4. Кооперативные механизмы активации сократительных белков

Важнейшей особенностью механо-химического блока модели является учет *кооперативных механизмов активации сократительных белков*. Формализованы три типа кооперативности сократительных белков [49, 51].

К ним относятся следующие механизмы:

- Средство TnC к кальцию увеличивается:
 1. при увеличении концентрации поперечных мостиков, прикрепленных к актиновой нити около данного комплекса (кооперативность первого типа),
 2. при увеличении концентрации Ca-TnC комплексов вблизи данного комплекса (кооперативность второго типа).
- Присоединение кальция к молекуле TnC, приводящее к сдвигу соприжатой молекулы тропомиозина, облегчает дерепрессию близлежащих мономеров актина на тонкой нити благодаря взаимодействию конец-в-конец соседних молекул тропомиозина (кооперативность третьего типа).

Кооперативность 1 и 2 типа формализованы в виде убывающей зависимости константы скорости распада k_{off} Ca-TnC комплекса от величин N и $[Ca_{TnC}]$ в уравнении (9.3). Кооперативность 3-го типа формализована в виде гиперболической зависимости k_+ в уравнении (9.4) (или N_A в формуле (9.8)) от величины $[Ca_{TnC}]$.

Заметим, что механозависимая кооперативная регуляция взаимодействия кальция с тропонином С (см. уравнение (9.3)) естественно должна отражаться на кинетике свободного кальция (см. уравнение (9.2)), которая благодаря этому оказывается *механочувствительной*, и временной ход изменения $[Ca^{2+}]_i$ в модели зависит от механических условий сокращения сердечной мышцы.

Учтенные механизмы кооперативности позволили воспроизвести и объяснить в рамках модели многочисленные биомеханические явления, наблюдаемые в сердечной мышце: эффекты грузозависимого сокращения и расслабления, механические ответы на деформации в течение активного сократительного цикла и др. (см. некоторые примеры ниже, а также обзор [28], в котором даны ссылки на более ранние работы.

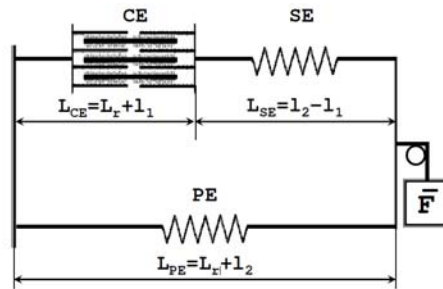


Рис. 9.3. Реологическая схема 3-элементной модели Хилла, в которой саркомер (CE – *contractile element*) связан с параллельным и последовательным пассивно-упругими элементами (PE – *parallel element*, SE – *series element*). Длина мышцы L считается пропорциональной длине параллельного элемента L_{PE} , а напряжение F , развиваемое мышцей, пропорционально сумме напряжений упругих элементов $F_{SE} + F_{PE}$

9.3.5. Механическая активность сердечной мышцы

Временной ход изменения доли силогенерирующих мостиков N тесно связан с собственно механической активностью сердечной мышцы: изменением ее длины L и силы F в течение сократительного цикла в различных

режимах сокращения (изометрическом, изотоническом, ауксотоническом).

В качестве сократительной единицы миокарда рассматривается саркомер, погруженный в *реологическую среду* (рис. 9.3), так что L и F тесно связаны с изменением длины L_{CE} и активной силы F_{CE} саркомера и зависят от упругих свойств параллельного и последовательного элементов (PE и SE).

Механическая активность саркомера

Сила F_{CE} , развиваемая сократительным элементом, полагается пропорциональной произведению доли N силогенерирующих мостиков в усредненной совокупности мостиков, приходящихся на один саркомер, на усредненную силу p , генерируемую усредненным силогенерирующим мостиком при текущей скорости изменения длины саркомера $v = dL_{CE}/dt$:

$$F_{CE} = \lambda \cdot p(v) \cdot N \quad (9.10)$$

где λ – коэффициент пропорциональности. Средняя сила усредненного мостика задается в виде явной обратимой функции $p = p(v)$, которая позволяет при известной нагрузке на мостик p найти в явном виде скорость укорочения/удлинения саркомера $v = v(p)$.

Зависимости деформация—напряжение для обоих упругих элементов являются входными функциями модели:

$$F_{SE} = \psi_1(L_{CE}, L), \quad F_{PE} = \psi_2(L).$$

Соответственно сила мышцы,

$$F = F_{SE} + F_{PE} = \varphi(L_{CE}, L),$$

зависит и от длины саркомера, и от длины мышцы.

В силу равенства $F_{CE} = F_{SE}$ и благодаря обратимости функции $p(v)$ уравнение (9.10) можно записать в виде уравнения (9.5) для L_{CE} , где правая часть зависит также от величин L и N .

Сокращения мышцы в различных режимах

В *изометрическом режиме* сокращения мышцы при фиксированной длине $L = \bar{L}$ ее сила F находится благодаря соотношению $F = \varphi(L_{CE}, \bar{L})$, где L_{CE} – решение уравнения (9.5) при $L = \bar{L}$.

В *изотоническом режиме* сокращения при фиксированной нагрузке на мышцу $F = \bar{F}$ для нахождения пары (L_{CE}, L) к уравнению (9.5) добавляется связное уравнение $\varphi(L_{CE}, L) = \bar{F}$ относительно L .

Продифференцировав соответствующее алгебраическое уравнение, можно получить обыкновенное дифференциальное уравнение (9.6) для L , где правая часть имеет вид:

$$g(L_{CE}, L, N) = \begin{cases} 0, & \text{при } L = \bar{L}, \\ -\frac{\frac{\partial \varphi(L_{CE}, L)}{\partial L_{CE}} \cdot f(L_{CE}, L, N)}{\frac{\partial \varphi(L_{CE}, L)}{\partial L}}, & \text{при } F = \bar{F} \end{cases}$$

и, так же как правая часть в уравнении для L_{CE} , зависит от доли силогенирующих поперечных мостиков N .

Итак, объединив уравнения механического и электрического блоков модели и переоценив ряд параметров объединенной модели, мы получили *интегративную* модель электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах, описывающую взаимосвязанные процессы возбуждения и сокращения-расслабления миокарда в течение сократительного цикла.

При этом основным связующим звеном между процессами возбуждения и сокращения выступает кинетика кальция в кардиомиоцитах, которая благодаря механозависимым механизмам кооперативности активации сократительных белков включена в обратную связь между механическими условиями сокращения сердечной мышцы и химическими и электрическими процессами в кардиомиоцитах.

Эта модель была верифицирована по отношению к широкому классу экспериментальных данных [28]. Кроме этого, она предсказала ряд новых явлений, ранее неизвестных. Эти явления затем были обнаружены в целенаправленных физиологических экспериментах (см., например, недавние статьи [53, 69, 88]).

9.4. Моделирование электрических и механических явлений в сердечной мышце в рамках ЕО-модели

Далее мы представляем ряд результатов численных экспериментов на ЕО-модели и даем их анализ.

9.4.1. Изометрические сокращения виртуальной мышцы

Мы показали, что в соответствии с экспериментальными данными модель адекватно воспроизводит влияние длины сердечной мышцы (т.е. начального растяжения саркомеров) в изометрическом режиме сокращения на временной ход генерации силы, Ca^{2+} переход и длительность ПД (рис. 9.4).

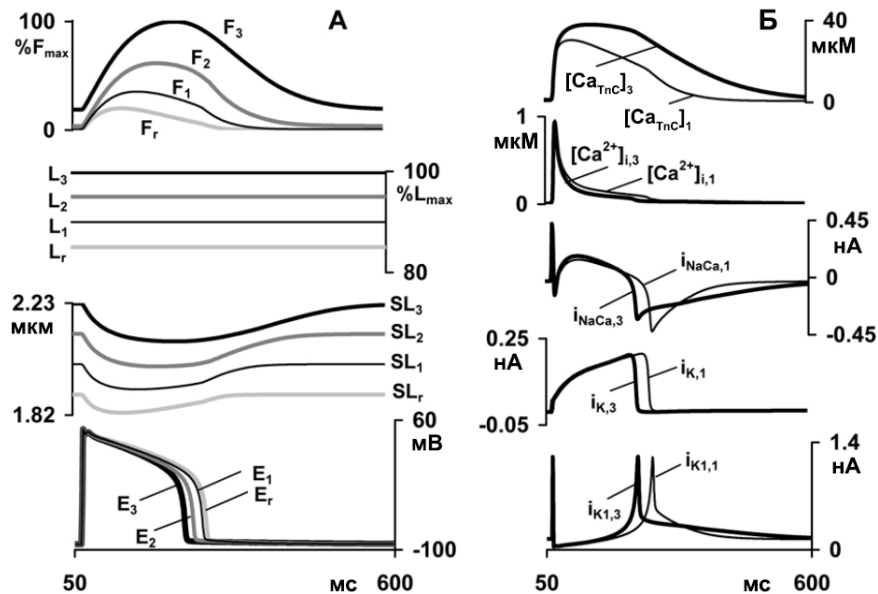


Рис. 9.4. Влияние длины виртуальной мышцы на временной ход сокращения-расслабления, кинетику кальция, ионные токи и потенциал действия в течение изометрических сокращений [84]. **А:** Рассмотрены изометрические сокращения при различных длинах мышцы, последовательно увеличивающихся на 5 % от реферативной длины L_r , соответствующей 85 % от L_{max} , вплоть до длины $L_3 = L_{max}$ (L_{max} – длина, при которой наблюдается максимально возможная изометрическая сила мышцы). При увеличении длины мышцы начальная длина саркомеров SL увеличивалась с 1.9 до 2.23 μm . Чем больше длина мышцы, тем большую изометрическую силу F она развивала, и тем короче был ее потенциал действия E . **Б:** Внутриклеточные процессы в виртуальной мышце при длинах L_1 и L_3 : показаны $[\text{Ca}^{2+}]_i$, концентрация Ca-TnC комплекса $[\text{Ca-TnC}]$, $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ обменный ток i_{NaCa} и реполяризующие K^+ токи i_K и i_{K1} как функции времени

Так, при увеличении длины мышцы максимальная изометрическая сила возрастает (т.е. в модели адекватно воспроизводится связь длина—сила),

время достижения максимума и характеристическое время расслабления увеличиваются, длительность Ca^{2+} перехода укорачивается. При этом в модели, не учитывающей механочувствительные каналы ($g_{MSC}=0$ в формуле (9.7)) или при малой проводимости этих каналов ($g_{MSC}=0.013$ мкСм), длительность ПД также укорачивается.

В то же время модель, учитывающая МЧК, предсказывает, что ответ кардиомиоцитов на растяжение может быть самым разнообразным: ПД может либо укорачиваться, либо удлиняться, при этом может наблюдаться перекрест хода реполяризации по отношению к контрольному ПД (например, при $g_{MSC}=0.09$ мкСм). При этом характер изменений ПД зависит от соотношения вклада кальций-зависимых процессов, модулирующих временной ход ПД в ответ на растяжение, и интенсивности токов через МЧК.

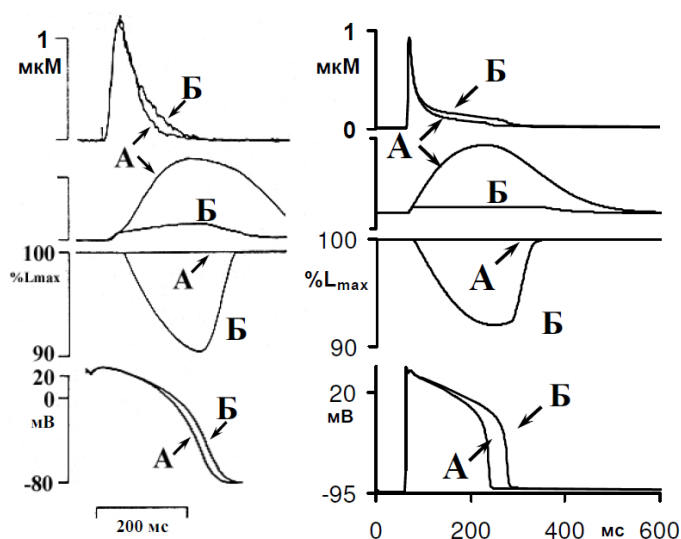


Рис. 9.5. Различия в кинетике кальция и генерации потенциала действия в изометрическом (кривые А) и изотоническом (кривые Б) циклах сокращения в эксперименте на папиллярной мышце хорька (левая панель, Lab et al. 1984) и в виртуальной мышце (правая панель) [84]. Сверху вниз: временной ход изменения $[\text{Ca}^{2+}]_i$; напряжения, генерируемого мышцей; длины мышцы и мембранного потенциала. Длительность постнагрузочного сокращения короче, чем длительность изометрического сокращения, а длительность Ca^{2+} перехода и ПД, напротив, больше во время сокращения при малой нагрузке

9.4.2. Изотонические сокращения виртуальной мышцы

В рамках модели впервые воспроизведено и исследовано влияние нагрузки на механическую и электрическую активность сердечной мышцы в постнагрузочных сокращениях (рис. 9.5). В частности, модель адекватно описывает связи конечносистолическая длина—сила и сила—скорость, а также зависимость работы и мощности от приложенной нагрузки. Модель воспроизводит тонкие эффекты грузозависимого расслабления сердечной мышцы, наблюдаемые в норме, или их исчезновение при патологии, например, при гипертрофии мышцы [15, 83]. Показано, что динамическое укорочение мышцы в слабонагруженном сокращении приводит к увеличению длительности ПД на фоне увеличения длительности Ca^{2+} перехода, что согласуется с соответствующими экспериментальными данными (рис. 9.5).

9.4.3. Влияние механических возмущений на потенциал действия

Показано, что в соответствии с экспериментальными данными и кратковременное укорочение, и кратковременное растяжение виртуальной мышцы в течение изометрического сокращения приводят к специфическому изменению формы и длительности ПД, зависящему от времени нанесения деформации, ее длительности и амплитуды [86].

Деформация как аритмогенный фактор. В соответствии с экспериментальными данными модель воспроизводит аритмогенноопасные последствия больших деформаций сердечной мышцы, наносимых в определенную фазу ПД. Мы показали, что в фазу завершения ПД имеется узкий диапазон времени, когда быстрые деформации виртуальной мышцы: и резкое укорочение, и резкое растяжение, амплитуда и скорость которых превышает некоторый порог, могут вызывать внеочередные ПД (рис. 9.6) [16, 86].

Заметим, что если аритмогенный фактор растяжения кардиомиоцитов достаточно широко обсуждается в литературе и ассоциируется с активацией МЧК, то влиянию резкого укорочения практически не уделялось долж-

ного внимания, и этот эффект впервые воспроизведен в рамках нашей модели.

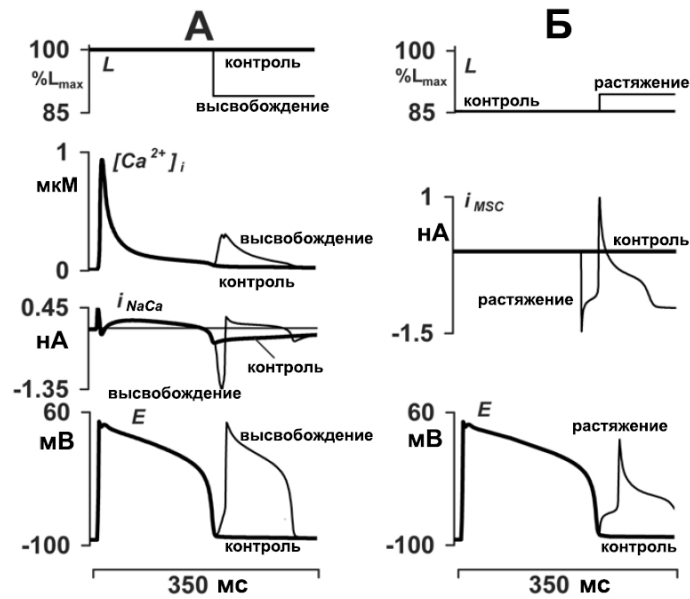


Рис. 9.6. Внеочередные ПД, вызванные деформациями [86]. Виртуальная мышца мгновенно высвобождалась (А) или растягивалась (Б) незадолго до завершения очередного ПД в течение контрольного изометрического сокращения (жирные линии). А: Изменение длины мышцы L , $[Ca^{2+}]_i$, Na^+-Ca^{2+} обменного тока i_{NaCa} и мембранного потенциала E в ответ на 11 % ступенчатое укорочение (тонкие линии). Б: Изменение длины мышцы L , тока через механочувствительные каналы i_{MSC} и мембранного потенциала E в ответ на 5 % растяжение (тонкие линии)

9.4.4. Молекулярно-клеточные механизмы

механо-электрической обратной связи

Мы применили разработанный нами *метод интегралов от разности токов* [85] для количественной оценки вклада изменения различных ионных токов в суммарное изменение потенциала действия в ответ на механическое воздействие.

Мы также использовали *метод фиксации потенциала действия*, который позволяет в экспериментах с механическими деформациями исключать потенциал-зависимые изменения токов и тем самым выявить токи, реагирующие на изменение собственно механических условий.

Количественный анализ результатов численных экспериментов позволил нам *впервые* установить причинно-следственную связь между молекулярными процессами, лежащими в основе наблюдаемых механо-

электрических проявлений. Центральным звеном механо-электрической связи во всех случаях является механозависимая кооперативная модуляция кинетики связывания-распада кальций-тропонинового комплекса, которая отражается на временном ходе и длительности Ca^{2+} перехода. Это изменение кинетики кальция в рамках нашей модели приводит к *кальций-зависимой модуляции Na^+ - Ca^{2+} обменного тока i_{NaCa}* , что является триггером для механовызванного изменения генерации ПД, т.е. вызывает небольшие изменения потенциала, которые, в свою очередь, приводят к изменению потенциал-зависимых токов (калиевых, натриевых, кальциевых), существенно модулирующему итоговое изменение потенциала. Таким образом, кальций-зависимое звено в цепи механо-электрической обратной связи может быть представлено следующей схемой: *сокращение \rightleftharpoons кинетика Ca-TnC комплекса \rightleftharpoons Ca^{2+} переход \rightleftharpoons i_{NaCa} \rightleftharpoons мембранный потенциал \rightleftharpoons потенциал-зависимые токи*. Заметим, что изменение длительности ПД в ответ на механические воздействия во всех рассмотренных экспериментах было однонаправленным с изменением длительности Ca^{2+} перехода: укорочению Ca^{2+} перехода соответствовало укорочение ПД и наоборот.

Наряду с механозависимой кинетикой кальция важным механизмом механо-электрической обратной связи является непосредственное влияние механического воздействия на механочувствительные токи i_{MSC} : *механический стимул $\rightarrow i_{\text{MSC}}$ \rightleftharpoons мембранный потенциал*. Численные эксперименты показали, что ряд изменений ПД, например, экспериментально наблюдаемый перекрест временного хода реполяризации или внеочередное возбуждение в ответ на растяжение сердечной мышцы, не могут быть получены в модели без учета этого механизма.

Описание в рамках модели широкого класса механических и электрических явлений, а также многократное подтверждение эвристических возможностей модели позволили нам использовать ее для изучения нового, неизвестного ранее класса явлений, связанных с неоднородностью миокарда. Здесь мы смогли предсказать ряд новых явлений, вызванных механическим взаимодействием между мышечными сегментами неоднородной

миокардиальной ткани, которые затем были зарегистрированы в целенаправленных физиологических экспериментах (см., например, обзорные работы [17, 28, 68]).

О РОЛИ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ. ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ: «ВИРТУАЛЬНЫЙ ЧЕЛОВЕК»

Подведем некоторые итоги, следующие из приведенных в этом пособии примеров моделирования физиологических процессов и в том числе нашего собственного длительного опыта моделирования функции сердечной мышцы [17], которые имеют достаточно общий характер и применимы к различным областям использования математического моделирования в биологии, физиологии, медицине.

1. При разработке модели для описания ряда комплексных эффектов часто требуется высказывать догадки о виде некоторых функциональных зависимостей, или даже о неизвестных механизмах, которые требует сам процесс моделирования. Разумеется, в дальнейшем требуется хорошо экспериментальное обоснование вводимых инноваций. Если такая процедура состоялась, можно утверждать, что моделирование способствовало приращению новых знаний об изучаемом явлении.

Например, для описания сложного комплекса механических явлений в миокарде нам пришлось привлечь фактически нигде не обсуждаемый ранее новый механизм кооперативности, для которого, в последующем нашли экспериментальное обоснование. Важно, что в рамках модели для этого нового механизма было найдено его специфическое служебное значение.

2. Благодаря экспериментальной технике и собственно экспериментам высокого аналитического разрешения, а также развитию могучей компьютерной техники, стала возможной разработка сложных, реалистических математических (компьютерных) моделей физиологических процессов на разных уровнях организации (от молекулярного до организменного).

3. В математических моделях для описания физиологических явлений употребляют строгий язык математики, благодаря которому возможно ко-

личественно предсказать различные явления, вытекающие из модельных представлений. Словесное, образное описание физиологических явлений и следствий, вытекающих из них, не обладает такими возможностями. Многие вербальные высказывания о механизмах физиологических явлений на первый взгляд могут казаться непротиворечивыми, но не выдерживают критики при математическом описании. Последнее является эффективным инструментом отсекающего невозможного и нередко кладет предел словесным фантазиям.

4. Математические модели являются источником конкретных количественных, как правило, экспериментально верифицируемых гипотез. У Лакатоса по этому поводу имеется следующая легенда [14]: «В Александрии жил царь. Он любил доказывать теоремы, но не умел их формулировать, и поэтому по всему свету посылал письма, чтобы ему присылали теоремы.» По этому поводу Прокл замечал: «Вначале надо знать, что ищешь». Численные эксперименты на моделях как раз помогают понять, что следует искать.

5. Модель позволяет более глубоко, широко и строго изучить представление о сложных процессах, вначале описанное словесно, а затем формализованное. Исследование влияния изменения тех или иных параметров системы на характер ответа модели, устойчивость ее ответа и ее чувствительность к этим изменениям позволяет узнать о таких свойствах системы, которые принципиально невозможно изучить, опираясь на словесное описание. Возможный характер ответа модели, который ожидался при словесном описании, в модели может оказаться совершенно неожиданным. Например, при определенных параметрах модели в ней могут возникать решения в виде автоколебаний, которые невозможно было предвидеть при вербальных описаниях. В этом смысле модель, если она достаточно сложна, чтобы быть реалистичной, может являться источником новых, иногда контринтуитивных знаний.

6. В некоторых случаях математическая модель физиологического явления может стать стимулом для пересмотра или даже радикального из-

менения парадигмы этого явления.

7. Особую роль математическое моделирование играет в тех случаях, когда модель ставится в принципиально новые, но физиологически значимые условия. Так, используя математическую модель, воспроизводящую механические и электрические явления в однородном миокарде, для исследования эффектов, возникающих при взаимодействии неоднородных виртуальных кардиомиоцитов в неоднородном миокарде, нами был открыт новый, неизвестный ранее класс явлений, подтвержденных в дальнейшем экспериментально.

8. Одна из кардинальных особенностей математических моделей, способных генерировать гипотезы, - их тесная и постоянная связь с экспериментом. В некоторых случаях (возможно, они преобладают) для экспериментальной проверки гипотез достаточно имеющегося ассортимента методов их регистрации. В других случаях, однако, может потребоваться принципиально новая, неизвестная ранее, методика. Возможно даже, что для этого потребуется много времени. Тем не менее, принципиально важно, что анализ модели способен приводить не только к предсказаниям новых явлений, но и к формулировке новых методов их регистрации.

В настоящее время в мире наблюдается резкий подъем в развитии математического моделирования в физиологии и медицине. Создание интегративных математических моделей сложных физиологических систем позволяет использовать математические методы и инновационные компьютерные технологии для описания этих систем сразу на нескольких уровнях их организации: от молекулярного нано-уровня до организменного макроуровня. Интегративный анализ физиологической системы как целого позволяет в рамках компьютерного эксперимента более глубоко понять механизмы функционирования системы в норме и при патологии, а также предсказать возможные способы коррекции патологических нарушений физиологических систем.

Понимание уникальности метода математического моделирования для анализа живых систем наряду с физиологическими и клиническими экспе-

риментами обусловило появление ряда международных программ и крупномасштабных проектов, связанных с разработкой количественных методов описания биологических систем и их компьютерных моделей. Глобальным международным проектом в этой области является научный проект «ФИЗИОМ» (*PHYSIOME* - от слияния «*physio-*» – жизнь и «*-ome*» – как целое)¹ [43], который является естественным продолжением проекта «ГЕНОМ» и предназначен для перехода от расшифровки генов к пониманию механизмов реализации кодируемых ими физиологических функций в рамках математических компьютерных моделей.

Хотя проект «Физиом» был провозглашен в 1997 г. в Санкт-Петербурге на 33-м съезде Международного союза физиологических наук (IUPS), к сожалению, российская научная общественность до сих пор мало информирована об этой инициативе, и лишь единичные российские группы исследователей связаны с этим проектом.

Многомиллионные проекты, направленные на разработку и использование математических моделей в физиологии и медицине, широко финансируются Национальным институтом здоровья США (программа Predictive Multiscale Models of the Physiome in Health and Disease), Японии, Новой Зеландии, Китая и других стран.

Европейский Союз в рамках 7-ой рамочной программы поддержал приоритетную программу «Виртуальный Физиологический Человек» (*Virtual Physiological Human* (VRH))² [29, 58]. Одной из долгосрочных задач этой программы является разработка персонифицированных моделей для оценки состояния конкретного больного и выбора индивидуального метода его лечения.

Ниже мы приводим выдержку из так называемой «Дорожной карты» проекта VRH, в которой сформулированы его цели и перспективы развития:³

«VRH проект является совокупностью (framework) методов и техноло-

¹<http://physiomeproject.org/>

²http://cordis.europa.eu/fp7/ict/programme/challenge5_en.html

³<https://www.biomedtown.org/biomedtown/STEP/Reception/step-definitions/>

гий, которая создаст возможность накапливать знания о физиологии и патологии человека, систематизируя и объединяя эти знания (аналогично со сборкой головоломок, части которых непрерывно обновляются), и представит их в виде, позволяющем предсказать, что произойдет с конкретным пациентом, если мы предложим процедуру его лечения, будет ли это предписание определенных лекарств, или рекомендация выполнить специфические упражнения, или рекомендация придерживаться определенной диеты, и т.д. Продолжая аналогию с головоломкой (puzzle), в настоящее время мы пытаемся создать цельную картину, принимая во внимание лишь некоторые разрозненные части головоломки поочередно. Проект VRH создаст фундамент, на который могут быть положены наши индивидуальные знания, чтобы обеспечить нас лучшим видением создаваемой картины, даже при наличии всего нескольких ее частей.

По завершении VRH проект позволит аккумулировать клинические данные, медицинские изображения, биомедицинские данные, или лабораторные наблюдения, собранные во многих (потенциально, во всех) европейских госпиталях и исследовательских институтах. Это обеспечит исследователей прямым доступом к пониманию полной картины событий через различные дисциплины, подсистемы и масштабы величин. Распределенная сеть суперкомпьютеров будет служить для хранения этих географически распределенных данных, предоставляя их пользователям как легкодоступный и легко используемый унифицированный централизованный ресурс.

Исследователи используют этот огромный объем результатов наблюдений для формулировки новых гипотез, которые, будучи воплощенными в форме компьютерных моделей, позволят аккуратно продемонстрировать вероятные исходы или предсказать определенные эффекты. Эти модели будут также сохранены и сделаны доступными (shared), так что каждый исследователь получит возможность экспериментировать непосредственно на компьютере (in silico) с любыми доступными моделями, или комбинировать их, исследуя взаимосвязи, присутствующие в организме человека, рассматриваемом как целое. Когда эти модели проверены на достоверность

и точность, они могут быть использованы клиницистами в их повседневной практике как обогащенные источники информации, на которых могут быть основаны принимаемые ими решения относительно каждого индивидуального пациента.»

К сожалению, до настоящего времени Россия недостаточно представлена в перечисленных выше программах, и большинство общепризнанных российских ученых – специалистов в этой области работает в зарубежных университетах и лабораториях. Для развития подобной сферы деятельности в России требуется подготовка специалистов нового типа, владеющих мультидисциплинарными знаниями, технологиями и навыками работы.

В настоящее время мы являемся свидетелями становления новой области знания – математической физиологии. Цель этой науки – количественное описание сложных физиологических систем при помощи математических моделей процессов, определяющих функцию этих систем. Уже появились учебные пособия по математической физиологии, в которых представлены математические модели физиологических процессов, протекающих в разнообразных физиологических системах на разных уровнях их организации от молекулярного до органного уровней (см., напр., [56]).

Направление математической и компьютерной физиологии находится в стадии становления в российских вузах и академических институтах, и настоящий учебный курс призван предоставить студентам классические примеры успешного и перспективного моделирования физиологических систем, во многом способствовавшие пониманию сути наблюдаемых явлений и предопределившие дальнейший прогресс в своей предметной области. Мы полагаем, что представленные в настоящем пособии примеры - модели биохимических реакций, клеточного транспорта, модель Ходжкина-Хаксли нервного импульса, модели Хилла и Хаксли мышечного сокращения, наконец, ЕО-модель электрических и механических явлений в сердечной мышце демонстрируют уникальные возможности математического моделирования в физиологии как самостоятельного инструмента не только исследования и понимания природы явлений, но и инструментом получения новых знаний

в физиологии.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. (том 1) М.: Мир, 1994. - 506 с.
- [2] Алтер М. Дж. Наука о гибкости. Киев, «Олимпийская литература», 2001. - 434 с.
- [3] Андронов А. А., Леонтович Е. А., Гордон И. М., Майер А. Г. Теория бифуркаций динамических систем на плоскости. М.: Наука, 1967. - 488 с.
- [4] Антонов В.Ф. и др. Биофизика. М.: ВЛАДОС, 1999. - 288 с.
- [5] Арнольд В.И. "Жесткие" и "мягкие" математические модели.-2 изд. М.: МЦНМО, 2008. - 32 с.
- [6] Базыкин А.Д. Математическая биофизика взаимодействующих популяций. М.: Наука, 1985. - 181 с.
- [7] Баутин Н.Н., Леонтович Е.А. Методы и приёмы качественного исследования динамических систем на плоскости. М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1990. - 488 с.
- [8] Белоусов Б.П. Периодически действующая реакция и ее механизмы: сборник рефератов по радиационной медицине за 1958 год. М. 1958. - 145 с.
- [9] Вольтерра В. Математическая теория борьбы за существование. М.-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2004. - 288 с.
- [10] Демидович Б. П. Лекции по математической теории устойчивости. — М.: Наука, 1967. - 472 с.
- [11] Камкин А.Г. Механоэлектрическая обратная связь в сердце. М.: Натюрморт, 2003. - 352 с.

- [12] Фундаментальная и клиническая физиология: учебник для студ. высш. учеб. заведений / под ред. А.Г. Камкина и А.А. Каменского. М.: Издательский центр "Академия 2004. - 1072 с.
- [13] Колмогоров А.Н. Качественное изучение математических моделей динамики популяций. // Проблемы кибернетики. М., 1972. Вып.5.
- [14] Лакатос И. Доказательства и опровержения. М.: Наука, 1967. - 151 с.
- [15] Мархасин В.С., Кацнельсон, Л.В. Никитина, Л.Ю. Проценко Л.Б., Руткевич С.М., Соловьева О.Э. [и др.] Биомеханика неоднородного миокарда Екатеринбург. УрО РАН, 1999. - 254 с.
- [16] Мархасин В.С., Викулова Н.А., Гурьев В.Ю., Кацнельсон Л.Б., Коновалов П.В., Соловьева О.Э., Сульман Т.Б. Математическое моделирование в физиологии и патофизиологии сердца. Вестник уральской медицинской академической науки, 2004. - Т. 3. - С. 31-37.
- [17] Мархасин В.С., Кацнельсон Л.Б., Москвин А.С., Соловьева О.Э. Математическое моделирование в физиологии. Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова, 2010. - Т. 96, вып. 9. - С. 880-905.
- [18] Мюррей Дж. Математическая биология. (том 1) М.- Ижевск: НИЦ "Регулярная и хаотическая динамика Институт компьютерных исследований, 2009. - 776 с.
- [19] Понтрягин Л.С. Обыкновенные дифференциальные уравнения. М.: Наука, 1974. - 331 с.
- [20] Ризниченко Г.Ю. Лекции по математическим моделям в биологии Часть 1. Ижевск, 2002. - 232 с.
- [21] Ризниченко Г.Ю. Математические модели биологических продукционных процессов. М.: Изд-во МГУ, 1993. - 302 с.
- [22] Ризниченко Г.Ю. Математические модели в биофизике и экологии. Ижевск, 2003. - 184 с.

- [23] Романовский Ю.М., Степанова Н.В., Чернавский Д.С. Математическая биофизика. М.: Наука, 1984. - 304 с.
- [24] Рубин А.Б., Пытьева Н.Ф., Ризниченко Г.Ю. Кинетика биологических процессов. М.: Изд-во МГУ, 1987. - 304 с.
- [25] Рубин А.Б. Биофизика клеточных процессов. М.: Высш. шк., 1987. - 303 с.
- [26] Самарский А.А., Гулин А.В. Численные методы. М.: Наука, 1989. - 430 с.
- [27] Свирежев Ю.М., Логофет. Устойчивость биологических сообществ М.: Наука, 1978. - 352 с.
- [28] Соловьева О.Э., Коновалов П.В., Викулова Н.А., Кацнельсон Л.Б., Мархасин В.С. Исследование электромеханического и механо-электрического сопряжения в миокарде при помощи математических моделей. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова, 2007. - Т. 93, вып. 9, - С. 945-968.
- [29] Соловьева О. Э., Мархасин В. С. «ЕВРОФИЗИОМ» И «ВИРТУАЛЬНЫЙ ЧЕЛОВЕК». Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, 2007. Т. 93, вып. 6, - С. 678-682.
- [30] Тихонов А.Н. Системы дифференциальных уравнений, содержащие малые параметры при производных. Мат. сб. Т. 32. вып. 3, 1952.
- [31] Фурсова П.В., Тёрлова Л.Д., Ризниченко Г.Ю. Математические модели в биологии Учебное пособие. М.-Ижевск: НИЦ: «Регулярная и хаотическая динамика», 2008. - 108 с.
- [32] Хилл А.В. Механика мышечного сокращения. пер. с англ. М.: Иностран. лит., 1963.
- [33] Шноль С.Э. Физико-химические факторы биологической эволюции. М., 1979.

- [34] Эльсгольц Л.Э. Дифференциальные уравнения и вариационное исчисление. М.: Наука, 1969. 425 с.
- [35] Яковлев Н.Н. Химия движения. М: Наука, 1983. - 192 с.
- [36] Allen D.G. Calcium concentration in the myoplasm of skinned ferret ventricular muscle following changes in muscle length / D.G. Allen, J.C. Kentish // J Physiol, 1988. – Vol. 407. – P. 489–503.
- [37] Allen D.G. The effects of muscle length on intracellular calcium transients in mammalian cardiac muscle / D.G. Allen, S. Kurihara // J Physiol, 1982. – Vol. 327. – P. 79–94.
- [38] Bainbridge F.A. The influence of venous filling upon the rate of the heart / F.A. Bainbridge // J Physiol, 1915. – Vol. 50. – P. 65–84.
- [39] Bers D.M. Excitation - Contraction coupling & cardiac contractile force / D.M. Bers. – Kluwer Academic Publishers, 2001. – 427 p.
- [40] Brauer F., Sanchez. Constant rate population harvesting: equilibrium and stability. Theor. Population Biol., 8:12-30, 1975.
- [41] Bretscher M.S. The molecules of the cell membrane. Scientific American, 1985, 253(4), 86-90 pp.
- [42] Carmeliet E. Cardiac Cellular Electrophysiology / E. Carmeliet. – Kluwer academic publishers, 2002. – 421 p.
- [43] Crampin et al. Computational physiology and the physiome project. Experimental Physiology 89.1 pp 1-26
- [44] Garny A., Noble D., Hunter P.J., Kohl P. CELLULAR OPEN RESOURCE (COR): current status and future directions. Philos Transact A Math Phys Eng Sci. 2009 May 28;367(1895):1885-905.
- [45] Hansen D.E. Mechanoelectrical feedback effects of altering preload, afterload, and ventricular shortening / D.E. Hansen // Am J Physiol, 1993. – Vol. 264, №2 Pt 2. – P. H423–432.

- [46] Hodgkin A.L., Huxley A.F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve // The Journal of Physiology, 1952, V. 117. P. 500–544.
- [47] Hsu S-B., Hubbell S.P., Waltman. A contribution of the theory of competing predators. Ecological Monographs, 48:337-349,1979.
- [48] Huxley A.F. Muscle structure and theories of contraction / A.F. Huxley // Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry, 1957. – Vol. 7. – P. 255–318.
- [49] Cooperative effects due to calcium binding by troponin and their consequences for contraction and relaxation of cardiac muscle under various conditions of mechanical loading / V. Izakov, L.B. Katsnelson, F.A. Blyakhman, V.S. Markhasin, T.F. Shklyar // Circ Res, 1991. – Vol. 69, №5. – P. 1171–1184.
- [50] Jacob, F.; Monod, J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. Journal of Molecular Biology 3: 318–356, 1961.
- [51] Katsnelson L.B. Mathematical modeling of relations between the kinetics of free intracellular calcium and mechanical function of myocardium / L.B. Katsnelson, V.S. Markhasin // J Mol Cell Cardiol, 1996. – Vol. 28, №3. – P. 475–486.
- [52] Influence of viscosity on myocardium mechanical activity: a mathematical model / L.B. Katsnelson, L.V. Nikitina, D. Chemla, O. Solovyova, C. Coirault, Y. Lecarpentier, V.S. Markhasin // J Theor Biol, 2004. – Vol. 230, №3. – P. 385–405.
- [53] Katsnelson L.B., Solovyova O., Balakin A., Lookin O., Kononov P., Protsenko Y., Sulman T., Markhasin V.S. Contribution of mechanical factors to arrhythmogenesis in calcium overloaded cardiomyocytes: Model predictions and experiments // Progress in Biophysics and Molecular Biology. Volume 107, Issue 1, October 2011, Pages 81-89

- [54] Katz A.M. Physiology of the heart / A.M. Katz. – Lippincott : Williams & Wilkins, 2001. – 718 p.
- [55] Feedback interaction of mechanical and electrical events in the isolated mammalian ventricular myocardium (cat papillary muscle) / R.L. Kaufmann, M.J. Lab, R. Hennekes, H. Krause // Pflugers Arch, 1971. – Vol. 324, №2. – P. 100–123.
- [56] Keener J., Sneyd J. Mathematical Physiology. Springer, USA, 1998. 470 p.
- [57] Kohl P. Cellular mechanisms of cardiac mechano-electric feedback in a mathematical model / P. Kohl, K. Day, D. Noble // Can J Cardiol, 1998. – Vol. 14, №1. – P. 111–119.
- [58] Kohl P, Noble, D. 2009. Systems biology and the virtual physiological human. Molecular Systems Biology 5: 292
- [59] Kohl P. Cardiac mechano-electric feedback and arrhythmias: from pipette to patient / P. Kohl, F. Sachs and M.R. Franz. – Elsevier/Saunders, 2005. – 423 p.
- [60] Kohl P. Cardiac Mechano-Electric Coupling and Arrhythmias/ P. Kohl, F. Sachs and M.R. Franz. – Oxford University Press, 2011. – 476 p.
- [61] Lab M.J. Mechanoelectric feedback (transduction) in heart: concepts and implications / M.J. Lab // Cardiovasc Res, 1996. – Vol. 32, №1. – P. 3–14.
- [62] Lab M.J. Mechanosensitivity as an integrative system in heart: an audit / M.J. Lab // Prog Biophys Mol Biol, 1999. – Vol. 71, №1. – P. 7–27.
- [63] Lab M.J. The effects of shortening on myoplasmic calcium concentration and on the action potential in mammalian ventricular muscle / M.J. Lab, D.G. Allen, C.H. Orchard // Circ Res, 1984. – Vol. 55, №6. – P. 825–829.
- [64] Lotka A.J. Undamped oscillations derived from the law of mass action. J. Amer. Chem. Soc., 2:1595-1599, 1920.

- [65] Lotka A.J. Elements of Physical Biology. Williams and Wilkins, Baltimore, 1925.
- [66] Malthus. An essay on the Principle of Population. Penguin Books, 1970. Originally published in 1798.
- [67] Markhasin V.S. Mechano-electrical heterogeneity in physiological function of the heart / V.S. Markhasin, O. Solovyova // Cardiac mechano-electric feedback and arrhythmias: from pipette to patient / P. Kohl, F. Sachs and M.R. Franz – Elsevier/Saunders, 2005. – Ch. 22. – P. 214–223.
- [68] Markhasin, V. S., Balakin, A. A., Protsenko, Y. L. and Solovyova, O. Activation sequence of cardiac muscle in simplified experimental models: Relevance for cardiac mechano electric coupling. // Chapter 21 in «Cardiac Mechano-Electric Coupling and Arrhythmias». Eds. P. Kohl, F. Sachs and M. R. Franz, Oxford Press. 2011. P. 153- 159.
- [69] Markhasin, V. S., Balakin, A. A., Katsnelson, L. B., Konovalov, P., Lookin, O. N., Protsenko, Y. and Solovyova, O. Slow force response and auto-regulation of contractility in heterogeneous myocardium. Prog Biophys Mol Biol 110 (2-3), 305-18. 2012
- [70] Michaelis L., Menten M.I. Die Kinetik der Invertinwirkung. Biochem. Z., 49:333-369, 1913.
- [71] Moss R.L. Myosin crossbridge activation of cardiac thin filaments: implications for myocardial function in health and disease / R.L. Moss, M. Razumova, D.P. Fitzsimons // Circ Res, 2004. – Vol. 94, №10. – P. 1290–1300.
- [72] Murray J.D. Asymptotic Analysis. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, second edition, 1984.
- [73] Murray J.D. Mathematical Biology. Springer, USA, 2007. 574 p.

- [74] Noble, D. A modification of the Hodgkin–Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pace-maker potentials. J Physiol 1962. – Vol. 160. – P. 317-52.
- [75] Improved guinea-pig ventricular cell model incorporating a diadic space, IKr and IKs, and length- and tension-dependent processes / D. Noble, A. Varghese, P. Kohl, P. Noble // Can J Cardiol, 1998. – Vol. 14, №1. – P. 123–134.
- [76] Odum E.P. Fundamentals of Ecology. Saunders, Philadelphia, 1963
- [77] Okubo A. Diffusion on Ecological Problems: Matematical Models. Springer-Verlad, Berlin-Heidelberg-New York, 1980
- [78] Prigogene I., Lefever R. Symmetry breaking instabilities in dissipative system. II. J. Chem. Phys., 48:1665-1700, 1968.
- [79] Segel L.A. On the validity of the steady state assumption of enzyme kinetics. Bull. Math. Biol., 50:579-593, 1988.
- [80] Segel L.A., Slemrod M. The quasi-stedy state assumption: a case study in perturbation. SIAM. Rev., 31:411-446, 1989.
- [81] Sipido K.R. Low Efficiency of Ca^{2+} Entry Through the $\text{Na}^{+}\text{-Ca}^{2+}$ Exchanger as Trigger for Ca^{2+} Release From the sarcoplasmic Reticulum. A Comparison Between L-Type Ca^{2+} Current and Reverse-Mode $\text{Na}^{+}\text{-Ca}^{2+}$ Exchange / K.R. Sipido, M. Maes, F.V.D. Werf // Circulation Research, 1997. – Vol. 81. – P. 1034–1044.
- [82] Soeller C. Analysing cardiac excitation-contraction coupling with mathematical models of local control / C. Soeller, M.B. Cannell // Prog Biophys Mol Biol, 2004. – Vol. 85, №2-3. – P. 141–162.
- [83] Mechanical inhomogeneity of myocardium studied in parallel and serial cardiac muscle duplexes: experiments and models / O. Solovyova, L. Katsnelson, S. Guriev, L. Nikitina, Y. Protsenko, S. Routkevitch, V.

Markhasin // Chaos Solitons Fractals, 2002. – Vol. 13, №8. – P. 1685–1711.

- [84] Mechanical interaction of heterogeneous cardiac muscle segments in silico: effects on Ca^{2+} handling and action potential / O. Solovyova, N. Vikulova, L.B. Katsnelson, V.S. Markhasin, P.J. Noble, A.F. Garny, P. Kohl, D. Noble // Inter J Bifurcation & Chaos, 2003. – Vol. 13, №12. – P. 3757–3782.
- [85] A novel method for quantifying the contribution of different intracellular mechanisms to mechanically induced changes in action potential characteristics / O. Solovyova, N. Vikulova, V.S. Markhasin, P. Kohl // Lecture Notes in Computer Science, 2003. – Vol. 2674. – P. 7–16.
- [86] Mathematical modelling of mechano-electric feedback in cardiomyocytes / O. Solovyova, N. Vikulova, P. Konovalov, P. Kohl, V.S. Markhasin // Russ J Numer Anal Math Modelling, 2004. – Vol. 19, №4. – P. 331–351.
- [87] Stern M.D. Putting out the fire: what terminates calcium-induced calcium release in cardiac muscle? / M.D. Stern, H. Cheng // Cell Calcium, 2004. – Vol. 35, №6. – P. 591–601.
- [88] T. Sulman, L. B. Katsnelson, O. Solovyova and V. S. Markhasin Mathematical Modeling of Mechanically Modulated Rhythm Disturbances in Homogeneous and Heterogeneous Myocardium with Attenuated Activity of Na^+/K^+ Pump. // Bulletin of Mathematical Biology. V. 70 №3, P. 910-949, 2008.
- [89] Trayanova N.A., Rice J.J. "Cardiac electromechanical models: from cell to organ."Frontiers In Computational Physiology and Medicine, 2(43), 2011.
- [90] Verhulst P.-F. Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. Cjrr. Math. et Phys., 10:113-121, 1838.

- [91] Verhulst P.-F. Recherche mathematiques sur le loi d'accroissement de la population. Nouveau Memoires de l'Academie Royale des Sciences et Bells Lettres de Bruxelles, 18:3-38, 1845.
- [92] Volterra V. Variazioni e fluttuazioni del numero d'individui in specie animali conviventi. Mem. Acad. Lincei, 2:31-113, 1926
- [93] Stretch-induced voltage changes in the isolated beating heart: importance of the timing of stretch and implications for stretch-activated ion channels / M. Zabel, B.S. Koller, F. Sachs, M.R. Franz // Cardiovasc Res, 1996. – Vol. 32, №1. – P. 120–130.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- автоколебательная система, 150
автономная система, 15
актин, 242
активный транспорт, 166, 186
антипорт, 188
асимптотическая устойчивость, 27
белки-переносчики, 186
бифуркационная диаграмма, 112
бифуркационное значение параметра, 114
бифуркация, 58, 112, 116
бифуркация типа складка, 112
биохимический триггер, 108
брюсселятор, 158
векторное поле направлений, 32
возбудимые клетки, 201
диффузия, 166
диффузия через мембрану, 174
динамическая система, 14
дискретное логистическое уравнение, 61
длительность потенциала действия, 280
ген-регулятор, 125
генетический триггер, 124
гидролаза, 67
грубая (структурно устойчивая) модель, 58
грубая система, 36
изоклина, 34
изометрический режим, 249
изотонический режим, 249
ингибирование, 91
ингибирование субстратом, 106
ионный канал, 211
задача Коши, 31
закон Фика, 168
закон Франка-Старлинга, 251
закон действующих масс, 70
зависимостью Лайнуивера-Берка, 89
кальцием вызванного высвобождения кальция, 277
канал-образующие белки, 186
кардиомиоцит, 241
кривая пополнения, 52
кинетика кальция, 282
клетка, 162
клеточная мембрана, 162
коэффициент диффузии, 170
конкурентное ингибирование, 90
константа Михаэлиса, 87
константа диссоциации, 74
константа скорости процесса, 21
константа скорости реакции, 70
константа сродства, 74
константа времени процесса, 21
кооперативных механизмов активации сократительных белков, 291
корепрессор (индуктор), 125
кривая Хилла, 101
квази-стационарная система, 82
логистическая кривая, 50
логистическая модель (модель Ферхюльста), 49
механическая активность саркомера, 293
механо-электрическая обратная связь, 280
механо-электрическое сопряжение, 280
механо-химическая обратная связь, 281
механочувствительные каналы, 282
мембранные транспортные белки, 184
метод Эйлера, 22, 33
метод изоклин, 34
миоцит, 241
миофибрилла, 242
миозин, 242
модели взаимодействующих видов, 132
модель «Екатеринбург-Оксфорд», 283
модель Ферхюльста с эффектом охоты, 55
модель Хилла, 252, 257, 258
модель Ходжкина-Хаксли, 227
модель Мальтуса, 46
модель Михаэлиса-Ментен, 68
модель Жакоба-Моно, 124
модель хищник-жертва, 138
модель хищник-жертва (предельный цикл), 149
модель ионных каналов, 18
модель кальциевого насоса, 198
модель конкурирующих видов, 133
модель мембраны как электрической цепи, 210
модель мышечного сокращения Хаксли, 260
модель преобразования $Na^+ - K^+$ -АТФазы, 196

модель транспорта глюкозы в клетку, 188
 модель «брюсселятор», 157
 модифицированная модель Вольтерра, 146
 мульти-шкальная система, 17
 негрубая (структурно неустойчивая) модель, 58
 неконкурентное ингибирование, 94
 неравновесная система, 17
 неустойчивое стационарное состояние, 26
 невозбуждаемые клетки, 201
 облегченная диффузия, 166, 178
 оперон, 124
 осмос, 166
 основные функции биомембран, 163
 особая точка, 35
 открытая система, 16
 отношение Уссинга, 214
 отрицательная кооперативность, 99
 параметры системы, 13
 параметрическое переключение триггера, 114, 130
 пассивный транспорт, 165
 пейсмейкер, 150
 переносчиком-опосредованный транспорт, 166
 периодическое состояние, 13
 петля гистерезиса, 115
 положительная кооперативность, 99
 поперечные мостики, 244
 популяция, 46
 потенциал Голдмана-Ходжкина-Каца, 208
 потенциал Нернста, 201
 потенциал действия, 201, 221
 потенциал покоя, 200, 226
 поток Уссинга, 214
 продукт, 67
 псевдостационарная (редуцированная) система, 82
 распределенная система, 16
 разностные уравнения, 15
 разность потенциалов на мембране, 200
 реакция Белоусова-Жаботинского, 160
 реологические модели, 254
 реполяризация, 225
 репрессор, 124
 рианодиновые рецепторы, 275
 саркоплазматический ретикулум, 246, 274
 седло, 41
 сепаратриса седла, 42
 силовое переключение триггера, 129
 симпор, 187
 синтез белка, 125
 синусный узел, 275
 система Лотки-Вольтерра, 138
 система с сингулярным возмущением, 81
 скорость реакции, 69
 состояние объекта, 13
 стационарное состояние, 13
 структурный ген, 124
 субстрат, 67
 теорема Тихонова, 82
 терминальная цистерна, 274
 тетанус, 248
 точечная (сосредоточенная) система, 16
 трансфераза, 67
 триггерные свойства, 116
 тропмиозин, 245
 тропонин, 245
 устойчивое стационарное состояние, 26
 устойчивость по Ляпунову, 27
 узел, 41
 унипорт, 187
 уравнение первого приближения, 29
 уравнение Голдмана-Ходжкина-Каца, 207
 уравнение Планка, 204
 уравнение диффузии в одномерном случае, 171
 уравнение диффузии в трехмерном случае, 173
 уравнение реакции-диффузии, 171
 уравнение электродиффузии Нернста-Планка, 204
 фазовая траектория, 32
 фазовый портрет, 32
 фазовый вектор, 14
 фазовое пространство, 31
 фермент, 67
 фермент-субстратный комплекс, 68
 фокус, 44
 формула Эйлера, 38
 формула Михаэлиса-Ментен, 87
 характеристическое время, 21
 характерное время диффузии, 176
 центр, 44
 эффект памяти, 115
 электромеханическое сопряжение, 241, 273