

УДК 576.3, 577.3

## МОДУЛЯЦИЯ ДИНАМИКИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО КАЛЬЦИЯ ЦИТОЗОЛЬНЫМИ БУФЕРНЫМИ БЕЛКАМИ И ПОТОКАМИ ЧЕРЕЗ ПЛАЗМАТИЧЕСКУЮ МЕМБРАНУ КЛЕТКИ

И. В. Докукина, М. Е. Грачёва<sup>\*)</sup>, Е. А. Грачёв  
(кафедра компьютерных методов физики)

E-mail: irina\_g@mail.ru

**Представлено исследование влияния количества цитозольных кальций-связывающих белков и потоков ионов кальция через плазматическую мембрану клетки на буферные свойства митохондрий при внутриклеточной кальциевой сигнализации.**

### Введение

В результате недавних исследований сложной внутренней организации клетки [1] было показано, что митохондрии могут играть одну из ключевых ролей в нелинейном процессе кальциевой ( $\text{Ca}^{2+}$ ) сигнализации. Наряду с цитозольными  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающими белками митохондрии являются мощнейшими буферами  $\text{Ca}^{2+}$ , так как при повышении цитозольной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  они активно поглощают его через унипорты [2, 3].

В зависимости от типа клеток наблюдаются различные скорости поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями и высвобождения его обратно в цитозоль. Например, для гонадотропоцитов в работе [2] показано, что  $\text{Ca}^{2+}$  очень быстро поглощается митохондриями, после чего крайне медленно высвобождается обратно, его содержание остается повышенным спустя длительное время после окончания стимуляции клетки. В другом эксперименте [3] для клеток HeLa обнаружено, что  $\text{Ca}^{2+}$  поглощается митохондриями также быстро, однако уровень митохондриального  $\text{Ca}^{2+}$  возвращается к нормальному существенно быстрее по сравнению с предыдущим случаем.

В работе [4] показано, что при цитозольных осцилляциях  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке уровень  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях также осциллирует. Это означает, что митохондрии выполняют функцию кратковременных буферов  $\text{Ca}^{2+}$ , поскольку уровень  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях быстро возвращается к нормальному значению после каждой осцилляции  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле.

В работе [5] показано, что для гонадотропоцитов существенную роль в клеточной сигнализации  $\text{Ca}^{2+}$  играют потоки  $\text{Ca}^{2+}$  через плазматическую мембрану, хотя основным механизмом возникновения осцилляций  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке является его высвобождение из эндоплазматического ретикулума (ЭР) через каналы рецепторов, управляемые инозитол-1,4,5-трифосфатом ( $\text{IP}_3$ ).

Можно предположить, что наличие потоков  $\text{Ca}^{2+}$  через плазматическую мембрану клетки окажет существенное влияние на динамику митохондриального  $\text{Ca}^{2+}$  благодаря изменению баланса потоков.

Другой важнейшей буферной системой  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке являются цитозольные  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающие белки. Взаимодействие между буферными системами также может оказать определенное влияние на динамику каждой из систем.

В настоящей работе исследуется влияние потоков  $\text{Ca}^{2+}$  через плазматическую мембрану клетки на динамику митохондриального  $\text{Ca}^{2+}$ , а также влияние количества цитозольных  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих белков.

### Описание модели

В настоящей работе использовалась модель сложных внутриклеточных осцилляций кальция [4] как основа для описания базовых процессов взаимодействия цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  с ЭР, митохондриями и цитозольными  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающими белками. В работе [4] клетка рассматривается как закрытая система, не взаимодействующая с другими клетками и межклеточным пространством. Ввиду этого динамика  $\text{Ca}^{2+}$  описывается тремя обыкновенными дифференциальными уравнениями (цитозольный  $\text{Ca}^{2+}$ , митохондриальный  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  в ЭР) и двумя законами сохранения полного количества ионов кальция в клетке и полного количества  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих белков в цитозоле. Поскольку при включении в модель потоков  $\text{Ca}^{2+}$  через плазматическую мембрану клетки сама клетка перестает быть закрытой системой, то закон сохранения полного количества ионов кальция в клетке не выполняется, поэтому систему уравнений необходимо дополнить еще одним уравнением. В данном случае наиболее разумным является дополнение системы уравнением, описывающим динамику связывания  $\text{Ca}^{2+}$  с бу-

<sup>\*)</sup> University of Illinois at Urbana-Champaign, IL 61801, USA.

Таблица 1

Потоки в модели (см. [4] кроме  $J_{in}, J_{out}$ )

Обозначение	Зависимость	Описание
$J_{in}$	$k_{in} + k_{inIP_3} IP_3$	поток $Ca^{2+}$ через плазматическую мембрану в цитозоль (каналы)
$J_{out}$	$k_{out} Ca_{cyt}$	утечка $Ca^{2+}$ из цитозоля через плазматическую мембрану ( $Ca^{2+}$ -АТФаза)
$J_{rel}$	$\left( k_{leak} + k_{ch} IP_3 \frac{Ca_{cyt}^2}{K_1^2 + Ca_{cyt}^2} \right) (Ca_{ER} - Ca_{cyt})$	высвобождение $Ca^{2+}$ из ЭР (каналы и пассивная утечка)
$J_{serca}$	$k_{serca} Ca_{cyt}$	поток $Ca^{2+}$ в ЭР с помощью сарко/эндоплазматического ретикула $Ca^{2+}$ -АТФазы
$J_{mo}$	$\left( k_{mo} \frac{Ca_{cyt}^2}{K_4^2 + Ca_{cyt}^2} + k_m \right) Ca_m$	высвобождение $Ca^{2+}$ из митохондрий
$J_{mi}$	$k_{mi} \frac{Ca_{cyt}^8}{K_2^8 + Ca_{cyt}^8}$	поглощение $Ca^{2+}$ митохондриями

ферными белками в цитозоле, которое позволяет более полно описать физическую динамику клетки.

Кроме того, в данную модель включено в явном виде влияние  $IP_3$  на высвобождение  $Ca^{2+}$  из цистерн ЭР путем замены максимальной проницаемости  $k_{ch}$  кальциевых каналов ЭР в модели [4] на удельный по отношению к концентрации  $IP_3$  коэффициент  $k_{ch} \cdot IP_3$ . Влияние  $IP_3$  на систему описывается трапециевидными импульсами различных амплитуд, что соответствует внешнему воздействию на клетку агонистов различных концентраций. Помимо этого, от  $IP_3$  также зависит и поток  $Ca^{2+}$  в клетку через плазматическую мембрану. Известно, что поток  $Ca^{2+}$  внутрь клетки из межклеточного пространства должен являться возрастающей функцией  $IP_3$ , поскольку в противном случае стационарное значение цитозольного  $Ca^{2+}$  не менялось бы при изменении концентрации агониста. Поскольку точные механизмы, лежащие в основе этой зависимости, до сих пор обсуждаются, в настоящей работе используется простая линейная зависимость (табл. 1).

Схема потоков, включенных в модель, показана на рис. 1. Динамика системы описывается следующими дифференциальными уравнениями:

$$\frac{d Ca_{cyt}}{dt} = J_{in} - J_{out} + J_{rel} - J_{serca} + J_{mo} - J_{mi} + k_- CaPr - k_+ Ca_{cyt} Pr,$$

$$\frac{d Ca_{ER}}{dt} = \frac{\beta_{ER}}{\rho_{ER}} (J_{serca} - J_{rel}),$$

$$\frac{d Ca_m}{dt} = \frac{\beta_m}{\rho_m} (J_{mi} - J_{mo}),$$

$$\frac{d CaPr}{dt} = k_+ Ca_{cyt} Pr - k_- CaPr$$

и законом сохранения полной концентрации  $Ca^{2+}$ -связывающих белков в цитозоле

$$Pr_{tot} = Pr + CaPr,$$

где  $Ca_{cyt}$  — концентрация  $Ca^{2+}$  в цитозоле,  $Ca_{ER}$  —

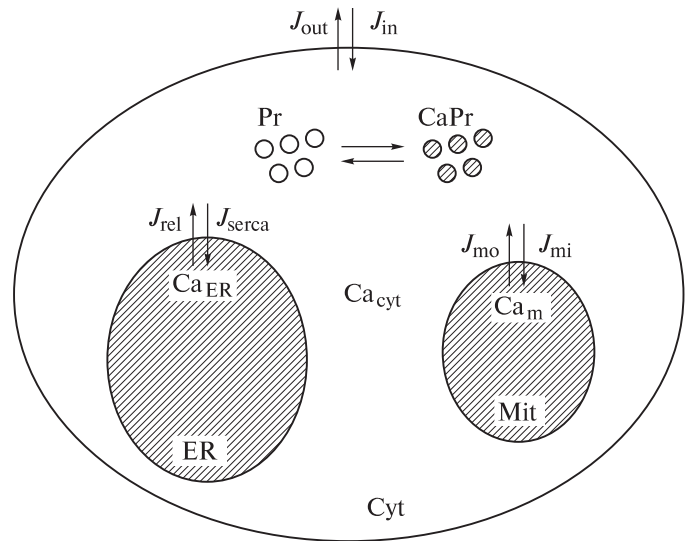


Рис. 1. Схематическое представление модели

концентрация  $Ca^{2+}$  в ЭР,  $Ca_m$  — концентрация  $Ca^{2+}$  в митохондриях,  $IP_3$  — концентрация инозитол-1,4,5-трифосфата в цитозоле,  $CaPr$  — концентрация  $Ca^{2+}$ , связанного с цитозольными белками,  $Pr$  — концентрация  $Ca^{2+}$ -связывающих белков, не связанных с  $Ca^{2+}$ . Параметры приведены в табл. 2, значение  $Pr_{tot}$  — в подписях к рисункам.

## Результаты

Моделирование отклика клетки на внешнюю стимуляцию начинается с задания трапециевидного закона повышенной концентрации  $IP_3$  в цитозоле от времени (рис. 2, график для  $IP_3$ ). В работе рассматривается продолжительное действие повышенной концентрации  $IP_3$ , при котором в клетке возникают осцилляции  $Ca^{2+}$ .

В работе [4] для клетки как закрытой системы наблюдаются периодические осцилляции  $Ca^{2+}$  с постоянной амплитудой в цитозоле, ЭР и митохондриях, что не соответствует экспериментам [2, 3],

Таблица 2

Параметры модели (см. [4], кроме  $k_{in}$ ,  $k_{out}$ ,  $k_{inIP_3}$ )

Обозначение	Значение	Обозначение	Значение	Обозначение	Значение
$k_{in}$	0.025 мкМ·с <sup>-1</sup>	$k_{out}$	0.5 с <sup>-1</sup>	$k_{inIP_3}$	0.0044 с <sup>-1</sup>
$\rho_{ER}$	0.01	$\beta_{ER}$	0.0025	$k_{ch}$	200 мкМ <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>
$k_{serca}$	20 с <sup>-1</sup>	$k_{leak}$	0.05 с <sup>-1</sup>	$K_1$	5 мкМ
$\rho_m$	0.01	$\beta_m$	0.0025	$k_{mi}$	300 мкМ·с <sup>-1</sup>
$k_{mo}$	125 с <sup>-1</sup>	$k_m$	0.00625 с <sup>-1</sup>	$K_4$	5 мкМ
$K_2$	0.8 мкМ	$k_+$	0.1 мкМ <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup>	$k_-$	0.01 с <sup>-1</sup>

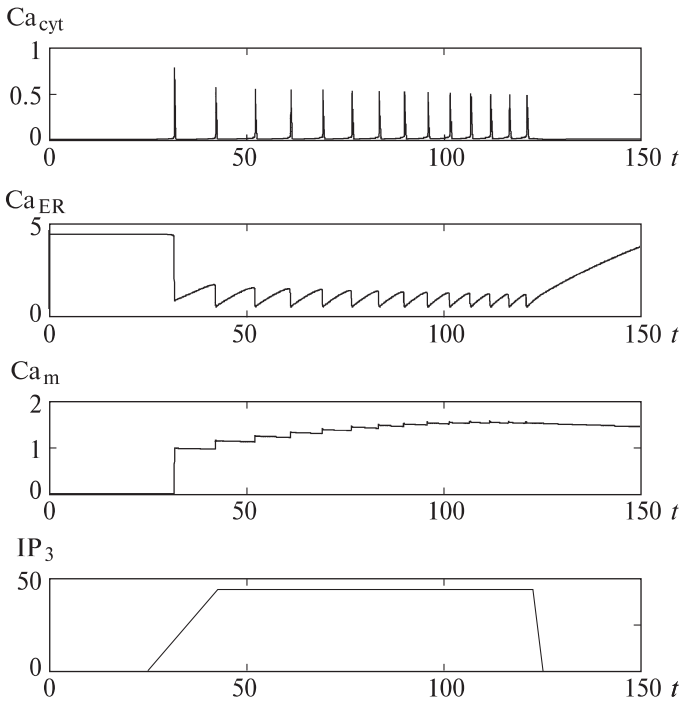


Рис. 2. IP<sub>3</sub>-зависимое понижение концентрации Ca<sup>2+</sup> в ЭР (Ca<sub>ER</sub>), повышение митохондриальной (Ca<sub>m</sub>) концентрации Ca<sup>2+</sup> и осцилляции цитозольной (Ca<sub>cyt</sub>) концентрации Ca<sup>2+</sup> с убывающей амплитудой. P<sub>Гtot</sub> = 120 мкМ. Значения концентраций Ca<sub>cyt</sub>, Ca<sub>ER</sub>, Ca<sub>m</sub> и IP<sub>3</sub> приведены в микромолях

где амплитуда осцилляций Ca<sup>2+</sup> в цитозоле убывает, а уровень Ca<sup>2+</sup> в митохондриях резко повышается с началом стимуляции и достаточно медленно убывает после ее окончания.

В настоящей работе при наличии потоков Ca<sup>2+</sup> через плазматическую мембрану клетки наблюдаются осцилляции Ca<sup>2+</sup> в цитозоле с убывающей амплитудой, а также резкое повышение уровня Ca<sup>2+</sup> в митохондриях с последующим медленным возвращением к нормальному значению (рис. 2) в согласии с экспериментом [2] для гонадотропоцитов. При этом в ЭР наблюдается резкое понижение уровня Ca<sup>2+</sup>, который быстро восстанавливается после окончания стимуляции клетки. Это легко объяснимо, поскольку Ca<sup>2+</sup> высвобождается из ЭР

в цитозоль и митохондрии в процессе стимуляции и возвращается обратно в ЭР после ее окончания.

Время возврата уровня Ca<sup>2+</sup> в митохондриях после окончания стимуляции клетки к нормальному значению составляет в модели около 4 мин (4–20 мин в эксперименте [2]) при значении полной концентрации цитозольных Ca<sup>2+</sup>-связывающих белков P<sub>Гtot</sub> = 120 мкМ (рис. 2; 3, а). Уменьшение этой концентрации до P<sub>Гtot</sub> = 65 мкМ (рис. 3, б) приводит к существенному повышению скорости возвращения уровня митохондриального Ca<sup>2+</sup> к нормальному значению в согласии с экспериментом [3] для клеток HeLa.

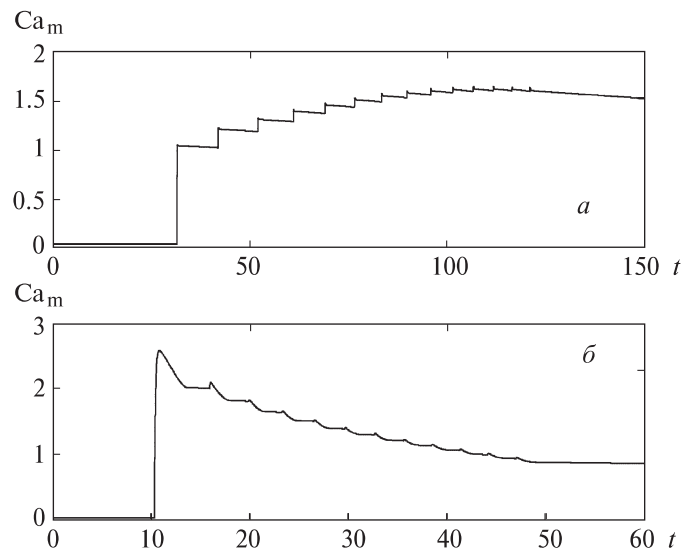


Рис. 3. Концентрация митохондриального Ca<sup>2+</sup> при P<sub>Гtot</sub> = 120 мкМ, IP<sub>3</sub> = 45 мкМ (а) и P<sub>Гtot</sub> = 65 мкМ, IP<sub>3</sub> = 35 мкМ (б). Значения концентраций Ca<sub>m</sub> приведены в микромолях, t — время в секундах

Длительность стимуляции клетки t = 37 с при P<sub>Гtot</sub> = 65 мкМ (рис. 3, б) уменьшена в два раза по сравнению с длительностью стимуляции t = 75 с при P<sub>Гtot</sub> = 120 мкМ (рис. 3, а), поскольку в экспериментах [2, 3] представлены результаты именно для этих времен. Изменение длительности стимуляции клетки в обоих случаях не приводит к существенному изменению динамики системы.

Кроме того, результаты моделирования при  $P_{r_{tot}} = 65$  мкМ получены для амплитуды  $IP_3 = 35$  мкМ, тогда как при  $P_{r_{tot}} = 120$  мкМ уровень стимуляции  $IP_3 = 45$  мкМ, поскольку в экспериментах [2, 3] типы и концентрации агонистов также различны. Это легко объяснимо, поскольку известно, что клетки различных типов обладают различной чувствительностью к агонистам и  $IP_3$ .

### Выводы

В работе средствами математического моделирования показано, что функция митохондрий как активного буфера цитозольного  $Ca^{2+}$  существенным образом определяется потоками  $Ca^{2+}$  через плазматическую мембрану клетки. Также показано, что в динамике митохондриального  $Ca^{2+}$  существенную роль играет взаимодействие системы с цитозольными  $Ca^{2+}$ -связывающими белками, количество кото-

рых может меняться от одного типа клетки к другому. Поэтому в разных клетках при одинаковом механизме сигнализации  $Ca^{2+}$  в зависимости от концентрации  $Ca^{2+}$ -связывающих белков наблюдается различная динамика митохондриального  $Ca^{2+}$ .

### Литература

1. *Rizzuto R., Pinton P., Carrington W. et al. // Science. 1998. 280. P. 1763.*
2. *Kaftan E.J., Xu T., Abercrombie R.F., Hille B. // J. Biol. Chem. 2000. 275, N 33. P. 25465.*
3. *Arnaudeau S., Kelley W.L., Walsh J.V. et al. // J. Biol. Chem. 2001. 276, N 31. P. 29430.*
4. *Marhl M., Haberichter T., Brumen M., Heinrich R. // BioSystems. 2000. 57. P. 75.*
5. *Shangold G.A., Murphy S.N., Miller R.J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1988. 85. P. 6566.*

Поступила в редакцию  
04.05.06