

УДК 576.3, 577.3

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

И. В. Докукина, М. Е. Грачёва^{*)}, 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 (Ca^{2+}) сигнализации. Наряду с цитозольными Ca^{2+} -связывающими белками митохондрии являются мощнейшими буферами Ca^{2+} , так как при повышении цитозольной концентрации Ca^{2+} они активно поглощают его через унипорты [2, 3].

В зависимости от типа клеток наблюдаются различные скорости поглощения Ca^{2+} митохондриями и высвобождения его обратно в цитозоль. Например, для гонадотропоцитов в работе [2] показано, что 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 Ca^{2+} поглощается митохондриями также быстро, однако уровень митохондриального Ca^{2+} возвращается к нормальному существенно быстрее по сравнению с предыдущим случаем.

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

В работе [5] показано, что для гонадотропоцитов существенную роль в клеточной сигнализации Ca^{2+} играют потоки Ca^{2+} через плазматическую мембрану, хотя основным механизмом возникновения осцилляций Ca^{2+} в клетке является его высвобождение из эндоплазматического ретикулума (ЭР) через каналы рецепторов, управляемые инозитол-1,4,5-трифосфатом (IP_3).

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

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

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

Описание модели

В настоящей работе использовалась модель сложных внутриклеточных осцилляций кальция [4] как основа для описания базовых процессов взаимодействия цитозольного Ca^{2+} с ЭР, митохондриями и цитозольными Ca^{2+} -связывающими белками. В работе [4] клетка рассматривается как закрытая система, не взаимодействующая с другими клетками и межклеточным пространством. Ввиду этого динамика Ca^{2+} описывается тремя обыкновенными дифференциальными уравнениями (цитозольный Ca^{2+} , митохондриальный Ca^{2+} и Ca^{2+} в ЭР) и двумя законами сохранения полного количества ионов кальция в клетке и полного количества Ca^{2+} -связывающих белков в цитозоле. Поскольку при включении в модель потоков 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 Ca^{2+} с бу-

^{*)} 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 ретикулума 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:

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

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

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

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

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

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

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

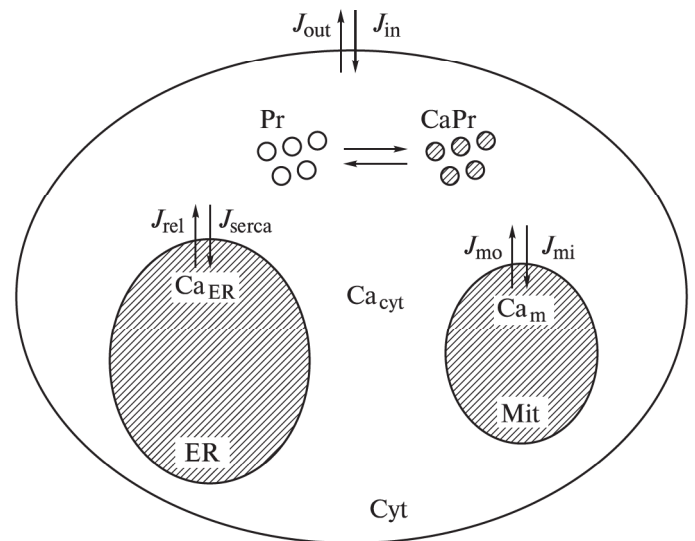


Рис. 1. Схематическое представление модели

концентрация Ca^{2+} в ЭР, Ca_m — концентрация Ca^{2+} в митохондриях, IP_3 — концентрация инозитол-1,4,5-трифосфата в цитозоле, $Ca Pr$ — 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}	$0.025 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$	k_{out}	0.5 с^{-1}	k_{inIP_3}	0.0044 с^{-1}
ρ_{ER}	0.01	β_{ER}	0.0025	k_{ch}	$200 \text{ мкМ}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$
k_{serca}	20 с^{-1}	k_{leak}	0.05 с^{-1}	K_1	5 мкМ
ρ_m	0.01	β_m	0.0025	k_{mi}	$300 \text{ мкМ} \cdot \text{с}^{-1}$
k_{mo}	125 с^{-1}	k_m	0.00625 с^{-1}	K_4	5 мкМ
K_2	0.8 мкМ	k_+	$0.1 \text{ мкМ}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$	k_-	0.01 с^{-1}

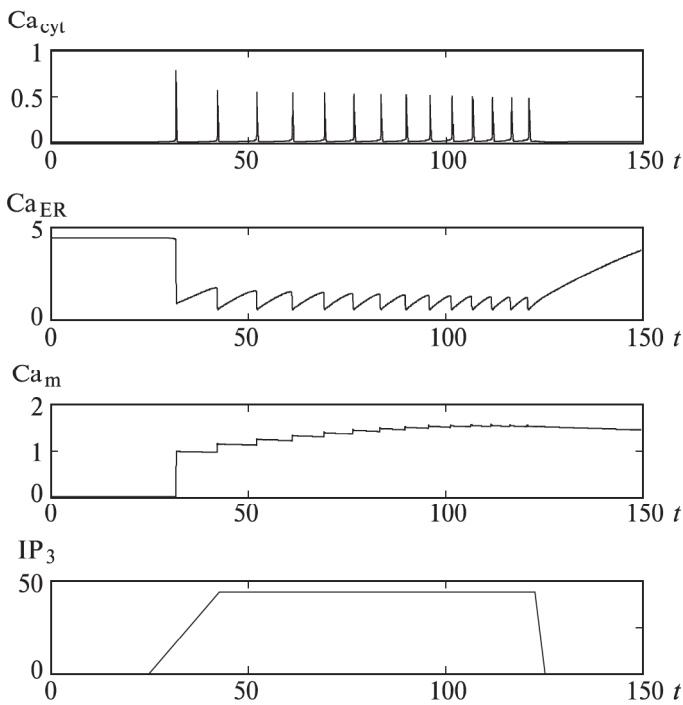


Рис. 2. IP_3 -зависимое понижение концентрации Ca^{2+} в ЭР (Ca_{ER}), повышение митохондриальной (Ca_m) концентрации Ca^{2+} и осцилляции цитозольной (Ca_{cyt}) концентрации Ca^{2+} с убывающей амплитудой. $P_{r_{tot}} = 120 \text{ мкМ}$. Значения концентраций Ca_{cyt} , Ca_{ER} , Ca_m и IP_3 приведены в микромолях

где амплитуда осцилляций Ca^{2+} в цитозоле убывает, а уровень Ca^{2+} в митохондриях резко повышается с началом стимуляции и достаточно медленно убывает после ее окончания.

В настоящей работе при наличии потоков Ca^{2+} через плазматическую мембрану клетки наблюдаются осцилляции Ca^{2+} в цитозоле с убывающей амплитудой, а также резкое повышение уровня Ca^{2+} 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^{2+} , который быстро восстанавливается после окончания стимуляции клетки. Это легко объяснимо, поскольку Ca^{2+} высвобождается из ЭР

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

Время возврата уровня Ca^{2+} 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^{2+} -связывающих белков $P_{r_{tot}} = 120 \text{ мкМ}$ (рис. 2; 3, а). Уменьшение этой концентрации до $P_{r_{tot}} = 65 \text{ мкМ}$ (рис. 3, б) приводит к существенному повышению скорости возвращения уровня митохондриального Ca^{2+} к нормальному значению в согласии с экспериментом [3] для клеток HeLa.

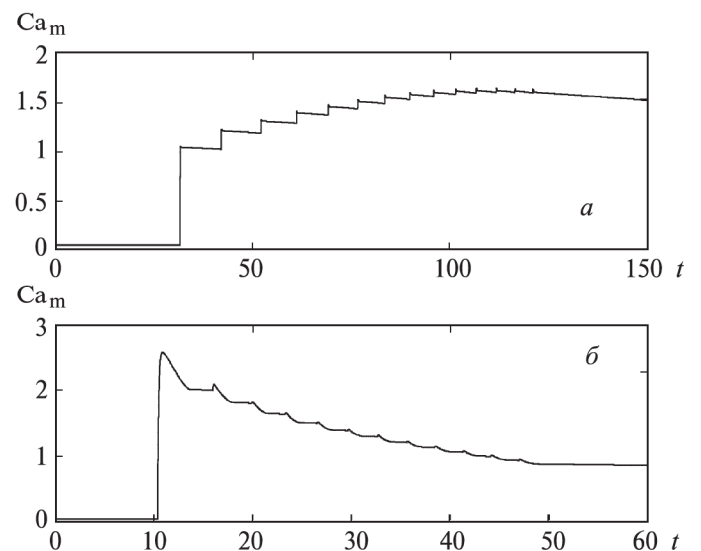


Рис. 3. Концентрация митохондриального Ca^{2+} при $P_{r_{tot}} = 120 \text{ мкМ}$, $IP_3 = 45 \text{ мкМ}$ (а) и $P_{r_{tot}} = 65 \text{ мкМ}$, $IP_3 = 35 \text{ мкМ}$ (б). Значения концентраций Ca_m приведены в микромолях, t — время в секундах

Длительность стимуляции клетки $t = 37 \text{ с}$ при $P_{r_{tot}} = 65 \text{ мкМ}$ (рис. 3, б) уменьшена в два раза по сравнению с длительностью стимуляции $t = 75 \text{ с}$ при $P_{r_{tot}} = 120 \text{ мкМ}$ (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 объяснить, 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