

International Union for Pure and Applied Biophysics

Международный Союз Теоретической и Прикладной Биологии

Academy of Sciences of the USSR

Академия Наук СССР

INTERNATIONAL	V	МЕЖДУНАРОДНЫЙ
BIOPHYSICS		БИОФИЗИЧЕСКИЙ
CONGRESS		КОНГРЕСС

[КН 1]

SYMPOSIAL PAPERS

ДОКЛАДЫ СИМПОЗИУМОВ

PUSHCHINO

ПУШИНО

1973

ТЕОРИЯ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ И ПАРАМЕТРЫ
ЭЛЕМЕНТАРНОГО СОКРАТИТЕЛЬНОГО
ЦИКЛА

В.И.Дещеревский

Институт биологической физики АН СССР,
Пушино, Московская область, СССР

Существенная часть результатов, представленных в этом докладе, получена совместно с А.Е.Букатиной, В.Н.Буравцевым и М.Ф.Чаплием.

В 1957 году А.Хаксли /1/ предложил математическое описание гипотезы скользящих нитей и показал, что его модель находится в согласии с известными динамическими и энергетическими свойствами поперечно-полосатых мышц, выражаемыми уравнениями Хилла. В последнее время появилось несколько модификаций этой модели, позволивших при соответствующем подборе параметров описать одиночное изометрическое сокращение /2/, автоколебание летательных мышц насекомых /2,3/ и переходные режимы сокращения после ступенчатого уменьшения нагрузки /4,5/. При этом оказалось, что для описания различных режимов сокращения приходится вводить новые параметры и предполагать разные значения параметров модели, характеризующих оилловые свойства замкнутого поперечного мостика и константы скоростей замыкания и размыкания мостиков. Поэтому актуальным является вопрос, возможно ли описание стационарных и нестационарных режимов сокращения в рамках одной модели с помощью единственного набора параметров.

В 1968 году мы попытались выделить существенные в механическом отношении состояния поперечного мостика и описать сокращение мышцы как переходы мостиков между этими состояниями /6/. Предполагалось, что замкнутые мостики могут быть двух сортов: "тянущие", развивающие постоянную положительную силу $+f$ и "тормозящие", развивающие постоянную отрицательную силу $-f$. Свободный мостик, замыкаясь, переходит в тянущее состояние, в котором он имеет низкую вероятность разомкнуться. После смещения, которое сопряжено со скольжением нитей, на расстояние b из положения наиболее вероятного замыкания (равновесного положения свободного мостика) он переходит в тормозящее состояние, в котором вероятность размыкания высока. Схема элементарного цикла, силовая характеристика замкнутого мостика и константы скоростей присоединения и отсоединения, а также уравнения модели для случая сокращения мышцы даны в правой половине

рис.1. "Кинетические" уравнения (1) и (2) описывают переходы мостиков между свободным, тянущим и тормозящим состояниями. Сила мышцы выражается как $f \times (n-m)$. Уравнение (3) описывает движение нагрузки T, обладающей массой J. Следует отметить, что эффективная константа скорости перехода мостиков из тянущего состояния в тормозящее имеет механическую природу и выражается как отношение скорости скольжения нитей, v , к среднему интервалу перемещения мостика, δ , на котором он развивает положительную силу $+f$. Приток мостиков в тянущее состояние описывается членом $K_1 \times (\alpha - n - m)$ (см. ур-е 1), что будет справедливо, если все свободные мостики имеют одинаковую вероятность замыкания. В уравнении (1) не учитывается размыкание тянущих мостиков, поскольку константа K_2 , которая может быть оценена по спаду напряжения во время расслабления мышцы //7/, мала по сравнению с K_1 , в том случае, если мышца полностью активирована.

Таким образом, кинетические уравнения (1,2) описывают весьма грубую модель поведения мостиков в сокращающейся мышце. Однако оказывается, что известные сократительные свойства могут быть количественно интерпретированы в ее рамках. Параметры модели могут быть определены однозначно по небольшому числу экспериментальных данных, и ниже будет показано, что различные режимы мышечного сокращения описываются с помощью одного набора параметров. С другой стороны, некоторые эксперименты, постановка которых была стимулирована этой моделью, выявили границы ее применимости и наметили пути ее усовершенствования.

Система уравнений (1-3) позволяет рассчитать динамику мышечного сокращения при различных условиях. Наиболее просто описывается моделью сокращение с постоянной скоростью. Выражение для стационарной скорости сокращения имеет вид характеристического уравнения Хилла (ур.7, рис.2). Скорости энерго- и теплопродукции при сокращении с постоянной скоростью выражаются уравнениями (8) и (9) и согласуются с данными Хилла при соответствующем подборе параметров.

В кинетической модели имеется пять параметров. Сравнение стационарного решения с уравнением Хилла дает три соотношения между ними. Число миозиновых выступов, α , можно оценить из структурных данных. Если еще предположить, как обычно, что максимальная работа поперечного мостика в цикле, $f \times \delta$, равна энергии гидролиза молекулы АТФ, ϵ , то параметры рабочего цикла могут быть оценены следующим образом: абсолютная величина силы мостика, $f = 3 \times 10^{-7}$ дин, длина "тянущей" зоны, $\delta = 100 \text{ \AA}$, константа скорости замыкания, $K_1 = 50 \text{ сек}^{-1}$, и константа скорости размыкания тормозящих мостиков, $K_2 = 150 \text{ сек}^{-1}$.

Следует отметить, что данная оценка очень приблизительна, поскольку точность части использованных экспериментальных данных оставляет желать лучшего. Чтобы получить более точные значения параметров, мы исследовали поведение модели в некоторых нестационарных режимах.

Наиболее информативным оказалось сокращение без нагрузки после быстрого освобождения тетанически стимулируемой мышцы. В тех случаях, когда массой регистрирующей системы и нагрузки можно пренебречь, уравнение (3) рис.1 вырождается в алгебраическое соотношение $f(n-m) = P$, и решение всей системы может быть получено аналитически. Приближение к стационарной скорости сокращения после ступенчатого уменьшения нагрузки от P_0 до P происходит монотонно. Начальная скорость превышает стационарную при малых скачках нагрузки:

$$A = \frac{P}{P_0} > \frac{1}{q-1}; \quad q = \frac{K_2}{K_1}. \quad \text{При } A < \frac{1}{q-1} \quad \text{начальная}$$

скорость меньше стационарной, и кривая изменения длины после сброса нагрузки показана на рис.3. Время "лаг-фазы" в общем случае дается выражением (II). Если нагрузка сбрасывается от P_0 до 0, то начальная скорость вдвое меньше стационарной, а лаг-период T и укорочение до выхода на стационарный режим ϵ_p связаны с константами K_1 и δ простыми соотношениями (ур. I2 и I3, рис.3). В эти формулы входит также отношение $\frac{K_2}{K_1} = q$, которое может быть определено по зависимости стационарной скорости от нагрузки ($q = 2 \div 3$). Однако влияние этого параметра относительно слабое.

Тщательное экспериментальное исследование переходных режимов после ступенчатого изменения нагрузки выполнено Подольским с коллегами /8/. Однако применявшаяся ими методика не позволяет исследовать динамику укорочения мышцы после сброса нагрузки от P_0 до величин меньших $0,2 P_0$. В этих условиях становится существенной масса самой мышцы, и начальная фаза сокращения осуществляется за счет высвобождения энергии, запасенной в последовательной упругой компоненте во время изометрического сокращения. Для определения динамики сокращения портняжной мышцы лягушки после ступенчатого сброса нагрузки от P_0 до 0 эксперимент был выполнен по следующей схеме. Тетанически стимулируемая и развившая максимальное напряжение мышца с помощью реле укорачивалась на 2-3% за 1 мсек, так что напряжение падало до 0. Спустя еще 1 мсек, неподвижный конец мышцы освобождался и регистрировалось его смещение. Экспериментальные кривые (рис.4) совпадают по форме с теоретическими, что дает возможность определить значения параметров: $T = 3,5 \div 4,5$ мсек, $\epsilon_p = 0,5\%$ от длины мышцы ϵ_0 , откуда при $q = 3$ $K_2 = 200 \div 250$ сек⁻¹, $K_1 = 65 \div 85$ сек⁻¹ и $\delta = 80$ А. Последний параметр независимо может быть определен из соотношения $K_2 \delta = V_{max}$, откуда $\delta = 60 \div 75$ А, что удовлетворительно согласуется с предыдущей оценкой.

Кривые восстановления силы после быстрого укорочения мышцы, полученные Джевелом и Вилки /9/, описываются теорией при близких значениях параметров /7/. Переходные процессы, наблюдавшиеся недавно Хаксли и Симмонсом /10/ с высоким временным разрешением, привели к открытию демпфированной упругой компоненты, которая, вероятно, обусловлена конформационными перестройками замкнутых мостиков. В таком случае

она должна быть непосредственно связана с шагом мостика и его силовой характеристикой.

Не конкретизируя природы демпфирования, мы попытались по четырем кривым, опубликованным А.Хаксли /II/, определить зависимость "длина-натяжение" для недемпфированной и демпфированной упругих компонент.

Быстрая фаза изменения напряжения в результате ступенчатого укорочения мышечного волокна происходит в течение нескольких миллисекунд (рис.5а). Если оценки констант кинетической модели, приведенные выше, верны по порядку величины, то размыканием и замыканием мостиков во время этой фазы можно пренебречь. Вязкоупругие свойства половинки саркомера на малых временах могут быть представлены схемой 5б и описываются следующим уравнением:

$$F(\xi) - \lambda \xi = T_0 - K(\ell - \xi) \quad (14)$$

Смысл переменных этого уравнения ясен из рис.5. Кажущийся коэффициент упругости недемпфированной компоненты

$$K_a = \frac{T_0 - T_1}{\tau} / \frac{100\ell}{0.5s} \quad (\ell - \text{длина саркомера, } K \text{ выражен в}$$

T_0 на 1% укорочения волокна) линейно уменьшается с ростом амплитуды укорочения ℓ (рис.5с). Можно предположить, что истинный коэффициент упругости K не зависит от ℓ , а наблюдаемая зависимость обусловлена частичным укорочением демпфированной компоненты за время вынужденного изменения длины волокна. В экспериментах /II/ это время примерно пропорционально амплитуде укорочения, т.е.

$$\ell = V \cdot t \quad (15)$$

где $V \approx 2 \cdot 10^{-3}$ см/сек. Поскольку за время вынужденного укорочения волокна длина демпфированной компоненты меняется незначительно, можно считать, что

$$F(\xi) = T_0 - \chi \xi \quad (16)$$

Решение уравнения (14) при условиях (15) и (16) дает следующие выражения для укорочения демпфированной компоненты ξ , амплитуды уменьшения силы $T_0 - T_1$ и кажущегося коэффициента упругости недемпфированной компоненты K_a :

$$\left. \begin{aligned} \xi &= \ell \frac{\tau}{\tau_0} - \frac{V\tau^2}{\ell} \left(1 - e^{-\frac{\ell}{V\tau}} \right) \\ \tau_0 &= \frac{\lambda}{K}; \quad \tau = \frac{\lambda}{K + \chi} \end{aligned} \right\} \quad (17)$$

$$T_0 - T_1 = k(\ell - \xi) = k\ell \left(1 - \frac{T}{T_0}\right) + kV \frac{T}{T_0} \left(1 - \ell \frac{V}{\tau}\right)$$

$$\text{при } \ell \ll V\tau \quad T_0 - T_1 = k\ell \left(1 - \frac{\ell}{2V\tau}\right) \quad (18)$$

$$K_a = \frac{T_0 - T_1}{T_0} / \frac{100\ell}{0,5 \text{ с}} = \frac{K \cdot S}{200T_0} \left(1 - \frac{\ell}{2V\tau}\right) \quad (19)$$

Сопоставляя выражение (19) с графиком 5с, можно оценить истинный коэффициент упругости недемпфированной компоненты, K , время релаксации и коэффициент "трения" λ . Нормируя их на величину изометрического напряжения T_0 и длину саркомера S получим следующие оценки: $K = 1,5 T_0$ на 1% укорочения, $\tau_0 = 10^{-3}$ сек $\lambda = 1,5 \cdot 10^{-3} T_0$ на 1% укорочения/сек. Оценка времени релаксации по фазе восстановления силы после прекращения вынужденного укорочения согласуется с приведенным выше значением τ . После того, как определен истинный коэффициент упругости недемпфированной компоненты, не представляет труда определить зависимость силы демпфированного элемента от его укорочения:

$$F(\xi) = T_2(\xi) = T_2 \left(\ell - \frac{T_0 - T_2}{K} \right) \quad (20)$$

что непосредственно вытекает из рис.5в. Эта зависимость изображена на рис.5д. Она может быть объяснена в рамках "кинетической" модели движением прямоугольного распределения мостиков из положения (1) в положение (2) по ξ . Из этой зависимости вытекает, что на значительном интервале смещения сила индивидуального мостика постоянна, как и предполагалось в нашей модели. Длина тянущей зоны, определенная таким способом, равна 30 Å.

Проведенная выше оценка справедлива, если при полученных значениях параметров λ и K и при определенных ранее значениях констант скоростей замыкания и размыкания мостиков решение кинетических уравнений для данного случая действительно будет разделяться на быстрые и медленные фазы. Если пренебречь массой мышцы и регистрирующей системы и учесть "вязкое сопротивление" движению мостиков и последовательную упругую компоненту, не конкретизируя их природу и локализацию, то вместо уравнения (3) рис.1 следует записать:

$$\left. \begin{aligned} V &= \frac{L}{\lambda} \{ T_0 - k(\ell - \xi) - f(n-m) \} \\ \xi &= \int_0^t v \, dt; \quad \ell = \begin{cases} Vt & \text{при } Vt \leq \Delta \ell \\ \Delta \ell & \text{при } Vt > \Delta \ell \end{cases} \end{aligned} \right\} \quad (21)$$

Числовые решения системы уравнений (1,2,21) при начальных условиях $n(0) = \alpha$, $m(0) = \xi(0) = 0$ для различных амплитуд укорочения Δl приведены на рис.6. При расчетах использованы полученные в предыдущей оценке значения параметров V , K и λ . Очевидно, что в расчетных кривых так же, как в экспериментальных, легко может быть вычленена фаза быстрых изменений напряжения мышцы.

Таким образом, различные способы определения параметров кинетической модели по динамике сокращения мышцы в разных условиях дают близкие значения. Это позволяет считать, что данная модель отражает в какой-то мере реальные процессы в сокращающейся мышце, а не является только набором эмпирических формул. Интересно отметить, что кинетическая модель применима и к летательным мышцам насекомых [7,12] и дает разумную величину и правильную зависимость мощности от частоты при значениях параметров, близких к определенным выше.

Неожиданный на первый взгляд результат был получен при исследовании поведения модели в случае сокращения мышцы с грузом, обладающим массой. Выход на стационар происходил колебательным образом несмотря на то, что из уравнений была исключена пассивная упругость мышц. В эксперименте, поставленном совместно с Буравцевым [13] на портяжной мышце лягушки были зарегистрированы колебания силы, частота которых не зависела от частоты стимулирующих импульсов, а определялась величиной и массой нагрузки. Несомненно, что эти колебания имеют активный характер (см.рис.7): при некоторых значениях параметров нагрузки амплитуда колебаний нарастает в ходе сокращения. Иногда наблюдаются двухчастотные колебания.

Система уравнений (1-3) (рис.1), которая рассматривалась до сих пор, дает только затухающие колебания и не способна описать более сложное поведение мышцы. Незатухающие и двухчастотные колебания могут быть объяснены теорией, если кинетика перехода мостиков из тянущего состояния в тормозящее вычисляется более аккуратно. Действительно, поток мостиков из тянущегося состояния в тормозящее определяется не средней концентрацией мостиков $\frac{n}{\delta}$, а реальной их концентрацией на границе тянущей и тормозящей зон (см. рис.1). Если все мостики в момент замыкания имеют смещение $\xi = 0$, то их концентрация на границе δ в момент времени t равна концентрации в точке $\xi = 0$ в момент $t - \tau$, где τ - время движения мостика по тянущей зоне. Этот эффект учитывается введением в уравнения членов с запаздыванием. Эти уравнения не имеют стационарного решения, если все мостики замыкаются при $\xi = 0$. Реальное поведение мышцы, включая все типы кривых фиг.7, было получено (фиг.8), когда вероятность присоединения постоянна для всех мостиков с $-0,8 \leq \xi \leq +0,8$ и равна нулю при других значениях ξ .

Интересно отметить, что во всех рассчитанных нами кривых с пульсирующей амплитудой укорочения мышцы за время одной пульсации соответствует смещению нитей на шаг мостика δ . Однако в эксперименте соответствующее укорочение сос-

твляает 3-4% от длины мышцы, что явно превышает размеры тянущей зоны. Это расстояние скорее соответствует осевой периодичности активных центров на нитях. Таким образом, механизм автоколебаний силы в ходе "изотонического" сокращения нуждается в дальнейшем экспериментальном и теоретическом исследовании.

Вероятно, для объяснения некоторых режимов сокращения потребуются более детальные представления о сократительном механизме, чем те, которые заложены в основу данной схемы. Однако можно сделать вывод, что многие черты динамики мышечного сокращения могут быть поняты в рамках довольно грубой модели.

Это позволяет рассматривать предложенную кинетическую схему как первое приближение к молекулярной природе элементарного сократительного цикла. В связи с этим возникают вопросы: возможно ли дальнейшее упрощение модели в рамках рассматриваемой схемы и какова связь постулированных существенных состояний мостика с его действительными молекулярными переходами в активной мышце.

Трудно сомневаться в том, что как свободное так и замкнутое состояния мостика действительно существуют в активной мышце и являются существенными для ее механического поведения. Следовательно, чтобы упростить модель, можно попробовать рассматривать лишь одно существенное состояние у замкнутого мостика вместо двух. Модель такого типа недавно была предложена Чаплиным и Фроммельтом /14/. В этой модели замкнутый мостик развивает только положительную силу, величина которой линейно уменьшается с ростом скорости сокращения и равна нулю при ненагруженном сокращении. Мостик размыкается после смещения на расстояние δ , так что одна из констант скоростей в этой модели имеет механическую природу и выражается точно так же, как константа скорости перехода из тянущего состояния в тормозящее в кинетической модели. Чаплин и Фроммельт показали, что их модель хорошо описывает энерго- и теплопродукцию мышцы при сокращении с постоянной скоростью. Подобная модель была исследована Буравцевым. Он получил аналитические решения и для стационарного и для переходного режимов, и для изменения силы при вынужденных колебаниях длины. Оказалось, что эта "редуцированная" модель описывает примерно такой же набор экспериментальных данных, как и кинетическая модель.

Может оказаться полезным рассмотреть причины такого динамического сходства "редуцированной" и кинетической модели и пункты, по которым они различаются. Следует сказать, что редуцированная модель содержит столько же параметров, сколько и кинетическая, и в этом смысле не является более простой. В стационарном случае обе модели математически эквивалентны, поскольку описываются одинаковыми уравнениями. Следовательно, в условиях, близких к стационарным, они могут вести себя одинаковым образом.

Однако в резко нестационарных условиях их поведение существенно различается. В редуцированной модели ни при каких условиях не может происходить скольжения нитей со скоростью, превышающей стационарную скорость сокращения

без нагрузки. В "кинетической" модели скорость скольжения нитей на расстоянии меньше "шага" мостика δ может лимитироваться только либо вязким сопротивлением саркоплазмы в области перекрытия нитей, либо собственным временем конформационной перестройки замкнутого мостика, которое в рамках "кинетической модели" считается пренебрежимо малым по сравнению с $\frac{1}{k_2}$. Следовательно, скорость сокращения в переходном процессе может значительно превышать максимальную стационарную. В переходных процессах, полученных Хаксли и Симмонсом /10,11/, начальная скорость сокращения "демпфированной упругой компоненты", т.е. скорость движения мостиков, в 7-10 раз превышала стационарную скорость скольжения нитей при сокращении без нагрузки. Таким образом, внутреннее трение мостиков вряд ли может быть силой, лимитирующей скорость ненагруженного сокращения. Тормозящая сила отдельного мостика скорее имеет потенциальную природу, как предполагается в кинетической модели.

Этот вопрос тесно связан с проблемой энергетической структуры реальных конформационных состояний замкнутого мостика. Мостик является молекулярным объектом и, следовательно, подвержен интенсивным тепловым флуктуациям. Поэтому, такие его характеристики как сила и смещение имеют смысл средних по времени величин (временной интервал осреднения считается малым по сравнению с временем сокращения).

Если мостик обладает осредненной силовой характеристикой, постулированной в моделях Чаплина-Фроммельта /14/, то это должно означать, что от момента замыкания до размыкания он проходит через ряд устойчивых состояний с монотонно убывающей потенциальной энергией, разделенных сравнительно высокими активационными барьерами. Силовая характеристика, постулированная в "кинетической модели" /6,7/, означает, что на некотором интервале перемещений мостик проходит через ряд состояний с убывающей энергией, разделенных значительными энергетическими барьерами, а на интервале перемещений, предшествующем размыканию, потенциальная энергия возрастает.

В предположении, что число реальных энергетических состояний мостика невелико, можно попытаться получить его осредненные "механические" характеристики в рамках теории абсолютных скоростей реакций.

По-видимому, первая попытка применения этой теории для описания кинетики индивидуального мостика принадлежит Волькенштейну /15/. Недавно Хаксли и Симмонс /10/ дали очень привлекательную интерпретацию собственных результатов по переходным процессам в мышце в терминах теории абсолютных скоростей реакций. Однако расчеты такого типа будут иметь иллюстративный характер до тех пор, пока число устойчивых состояний миозинового мостика и их энергетическая структура будут оставаться вопросом вкуса исследователя.

Вероятно, некоторая информация по этому вопросу может быть получена путем определения параметров цикла поперечного мостика из экспериментов, в которых сократительный аппарат работает при различных физико-химических условиях. Первым шагом на этом пути должен быть поиск удобных эксперимен-

тальных моделей мышцы, в которых условия работы сократительной системы могли бы контролироваться и быть выбранными близко к физиологическим. Если динамика такой экспериментальной системы описывается той же самой математической моделью, что и динамика нативной мышцы, то возможно сравнение сократительных механизмов в терминах параметров модели.

Мы попытались исследовать зависимость скорости сокращения глицеринированных волокон спинной мышцы кролика от нагрузки. Однако нам не удалось получить стационарного сокращения этих препаратов: скорость монотонно уменьшалась в ходе сокращения под постоянной нагрузкой. Одной из вероятных причин такого поведения является перераспределение длин саркомеров во время изометрического сокращения препарата в активирующей среде. Требуется около 10 секунд для установления стационарных концентраций реагентов, а это, вероятно, слишком большое время для поддержания изометрического сокращения в случае быстрой мышцы. Мы, действительно, наблюдали области с укороченными до 1,8 μ и растянутыми до 2,9 μ саркомерами вдоль глицеринированного волокна в сокращающем растворе, хотя исходная длина саркомеров была 2,3-2,5 μ . Другая вероятная причина отсутствия стационарного сокращения может иметь химическую природу. Когда волокно освобождается, скорости производства F_m и АДФ возрастают, и новые стационарные концентрации не успевают установиться за время сокращения.

По этой причине мы попытались сравнить поведение глицеринированных и нативных мышц при вынужденных колебаниях длины, когда скорость гидролиза АТФ низка. В этом режиме поведение глицеринированных волокон спинной мышцы кролика аналогично поведению тетанически стимулируемой портяжной мышцы лягушки (рис.9). Сдвиг фазы между натяжением и длиной в некотором диапазоне частот становится отрицательным, что соответствует отрицательному трению препарата. Кривые для глицеринированных волокон и нативных мышц имеют одинаковую форму, но первая кривая сдвинута в область более низких частот. Таким образом, можно надеяться, что в обоих случаях применима одна и та же математическая модель, хотя временные масштабы отличаются в 10 раз. Однако возможная интерпретация этих кривых в терминах кинетической модели /16/ слишком сложна и не позволяет определить из них параметры модели единственным образом.

Существует возможность получить некоторую информацию о взаимодействии миозина, актина и АТФ в растворе из данных по стационарной кинетике гидролиза АТФ. Для этой цели мы предложили циклический механизм АТФ-азной активности актомиозиновых систем структурированного и неструктурированного типов в растворе /17/. Предложенная схема аналогична обычно предполагаемому циклическому механизму работы поперечных мостиков в мышце. С этой точки зрения, ферментативный акт гидролиза АТФ является результатом полного цикла ассоциации-диссоциации актомиозина, а не какой-либо одной стадии этого цикла.

Такой подход позволяет также оценить возможную роль

фибриллярной организации миозиновых и актиновых активных центров в кинетике расщепления АТФ. Эта организация приводит к понижению энергии активации гидролиза /17/. Мы предполагаем, что связь между активными центрами (замкнутыми мостиками между парой протофибрилл) делает возможной утилизацию некоторой части энергии АТФ для понижения активационного барьера лимитирующей стадии цикла взаимодействия актина и миозина. Именно энергия, которая освобождается на одном активном центре (на "тянущем" мостике) может посредством скольжения нитей приводить к деформации другого активного центра ("тормозящего" мостика), увеличивая вероятность диссоциации актомиозина.

Деформация актомиозинового активного центра сопряженная с переходом мостика в тормозящее состояние, вероятно, облегчает диссоциацию продуктов (АДФ и Фн), что является, согласно Лимну и Тейлору /19/, лимитирующей стадией цикла акто-ТММ, в котором гидролизуется АТФ. Константа скорости этой стадии (10-20 сек⁻¹ при 20°C /19/) соответствует константе скорости размыкания тянущих мостиков (5-7 сек⁻¹ при 0°C /7/) и является лимитирующей в изометрических условиях, когда все мостики в этом случае находятся в тянущем состоянии. При сокращении без нагрузки половина замкнутых мостиков находится в неустойчивом тормозящем состоянии, в котором константа скорости размыкания возрастает в 30-40 раз. Это соответствует понижению на 2 ккал активационного барьера для стадии, лимитирующей скорость размыкания мостика (для диссоциации ФДФ и Фн, если концентрация АТФ достаточно высока).

Предложенный механизм может рассматриваться как механохимическая обратная связь, которая регулирует в мышце скорость высвобождения энергии.

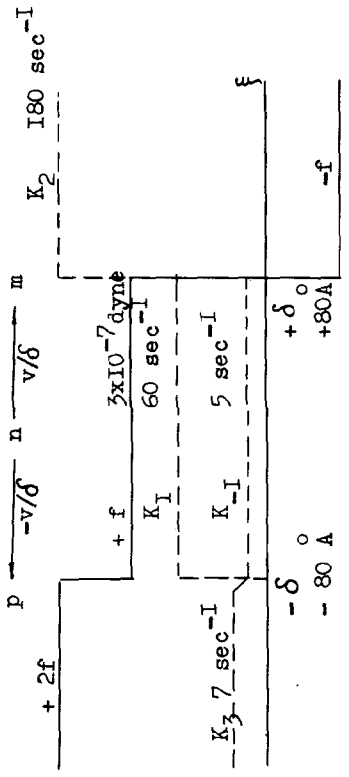
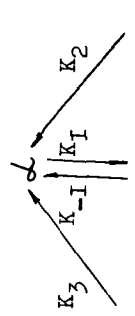
Литература

1. Huxley A., Progr.Biophys.biophys.Chem., 2, 255, 1957
2. Julian F. Biophys. J., 2, 547, 1969
3. Thorson J., White D.C.S., Biophys J., 2, 360, 1969
4. Podolsky R.J., Nolan A.C., Zaveler S.A., Proc.Nat.Acad. Sci., US, 64, 507, 1969
5. Podolsky R.J., Nolan A.C. in Contractility of Muscle Cells and Related Processes, ed.by R.J.Podolsky, 1971, by Prentice-Hall, p.247, 1971
6. Дещеревский В.И., Биофизика, 13, 928, 1968
7. Deshcherevskii V.I., Biorheology 2, 147, 1971
8. Civan M.M., Podolsky R.I., J.Physiol. 184, 511, 1966
9. Jewell B.R., Wilkie D.K., J.Physiol., 143, 515, 1958
10. Huxley A.F., Simmons R.M., Nature, 233, 533, 1971
11. Huxley A.F., Proc.Roy.Soc., B 178, 1971
12. Дещеревский В.И. Биофизика 15, 53, 1970
13. Буравцев В.Н., Дещеревский В.И., Биофизика 15, 541, 1970
14. Chaplain R.A., Frommelt B., J.Mechanochem.Cell Motility 1, 41, 1971
15. Volkenstein M.V., Biochim.Biophys.Acta, 180, 562, 1969
16. Дещеревский В.И. в сб. "Колебательные процессы в биологических и химических системах" ред. Е.Е.Сельков и др., т.2, Пушино-на-Оке, 1971, II, 1971

17. Букатина А.Е., Дещеревский В.И., Биофизика, 17, 738, 1972
18. Букатина А.Е., Буравцев В.Н., Чаплий М.Ф., в сб. "Биофизические основы и регуляция процесса мышечного сокращения", Информац. центр. г. Пущино, 1972
19. Lynn R.W., Taylor E.W., Biochemistry 10, 4617, 1971

STRETCH
($v < 0$)

CONTRACTION
($v > 0$)



superpulling state (p) pulling state (n) hindering state (m)

$$\frac{dp}{dt} = K_1(\alpha - n - p) + v_n \quad (4) \quad \frac{dn}{dt} = K_1(\alpha - n - m) - \frac{v}{\delta}n \quad (1)$$

$$\frac{dp}{dt} = -\frac{v}{\delta}n - K_3p \quad (5) \quad \frac{dm}{dt} = \frac{v}{\delta}n - K_2m \quad (2)$$

$$\frac{dv}{dt} = \frac{I}{2NI} [f(n + 2p) - \pi] \quad (6) \quad \frac{dv}{dt} = \frac{I}{2NI} [f(n - m) - \pi] \quad (3)$$

FIG. 1

$$\left(T + \frac{k_1}{k_1 + k_2} f \right) V_s = \frac{k_1}{k_1 + k_2} k_2 (f - T) \quad (7)$$

$a_{\text{hill}} \quad b_{\text{hill}}$

$$\frac{dE}{dt} = Ek_2 M_s = E \frac{k_1 k_2}{(2k_1 + k_2)} T_0 - T \quad (8)$$

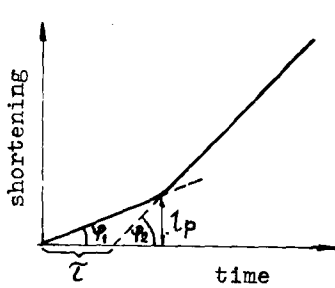
E is energy of ATP hydrolysis
 V_s and M_s - steady-state values of V and M

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{dE}{dt} - TV = V T_0 + T = \frac{Ek_1}{f(2k_1 + k_2)} ; = \frac{E(k_1 + k_2)}{f(2k_1 + k_2)} \quad (9)$$

If $= 10^{13}$, $T_0 = 3 \times 10^6$ dyn, $\frac{a}{T_0} = \frac{1}{4} 0.25$, $V_m = 1.5 \times 10^{-4} \frac{\text{cm}}{\text{sec}}$, $f = 3 \times 10^{-13}$ erg
 Then $f = 3 \times 10^{-7}$ dyn, $= 100 \text{ \AA}$, $k_1 = 50 \text{ sec}^{-1}$, $k_2 = 150 \text{ sec}^{-1}$

Fig.2

$$\bar{t} = \frac{1-A(q-1)}{K_2(1-A)} \ln \left\{ 1 + \frac{q(1-A)}{2[1+(q+1)]} \right\} \quad (11)$$



for $A = \frac{I_0}{I_0} = 0$

$$\bar{t} = \frac{1}{K_2} \ln \left(1 + \frac{q}{2} \right) \quad (12)$$

$$l_p = \delta \ln \left(1 + \frac{q}{2} \right) \quad (13)$$

$$q = \frac{K_2}{K_1}; v_{max} = K_2 \delta$$

$$v_{max} = \text{tg } \varphi_2 = 2 \text{tg } \varphi_1$$

Fig. 3

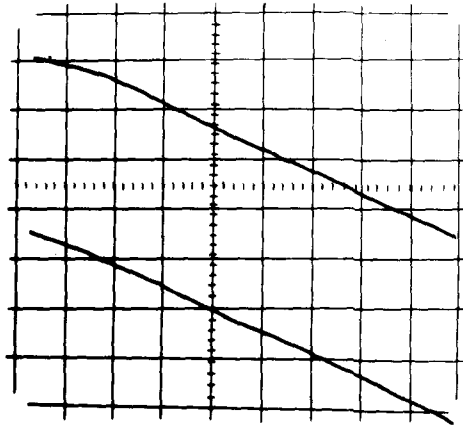


Fig. 4

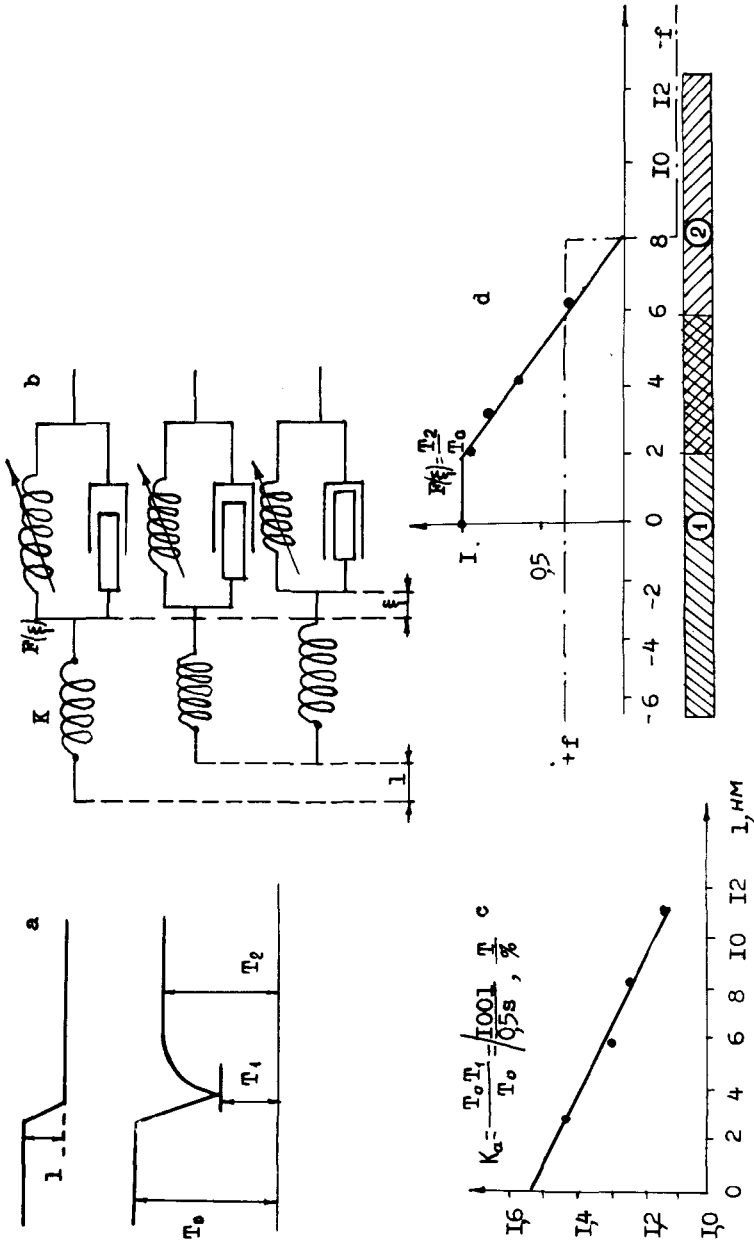


Fig. 5

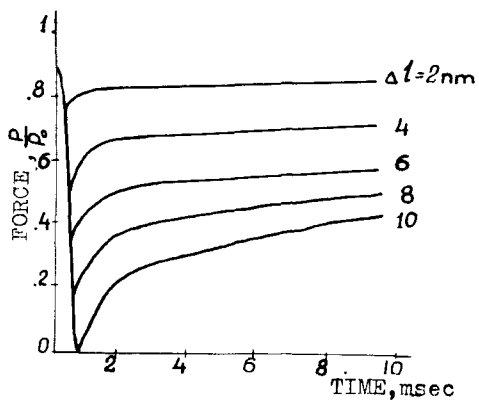


Fig.6

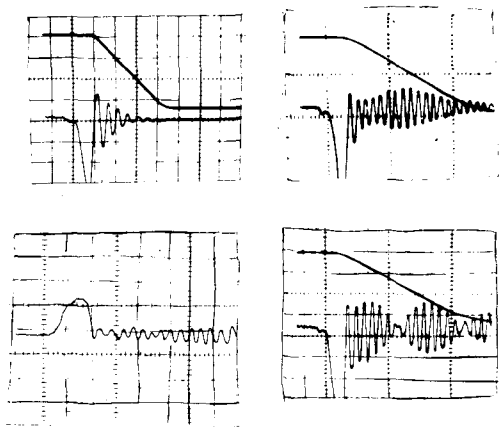


Fig.7

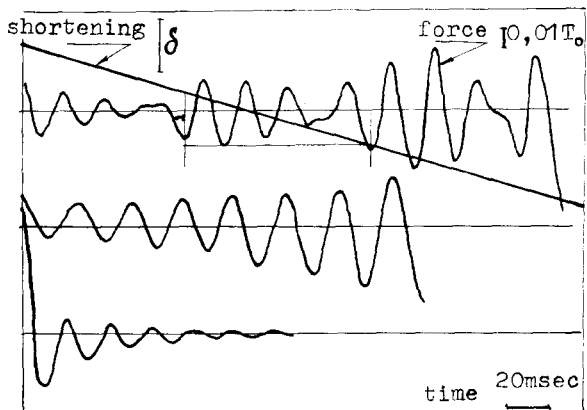


Fig.8

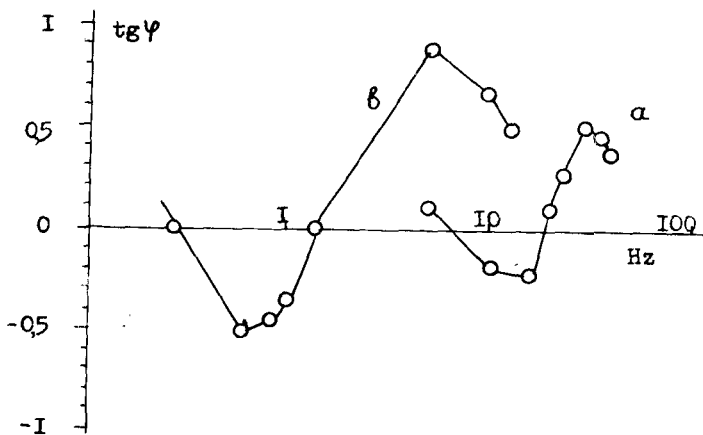


Fig.9

Рис.1. Верхняя диаграмма: элементарный цикл поперечно-го мостика. Средняя диаграмма: зависимость силы мостика (сплошная линия) и констант скоростей переходов между существенными состояниями цикла (пунктирные линии) от смещения мостика ξ из положения наиболее вероятного замыкания (из равновесного положения свободного мостика). Нижняя часть: уравнения "кинетической" модели. Правая половина соответствует сокращению, левая - растяжению активной мышцы. Обозначения: a , h , m и p в диаграммах имеют смысл свободного, тянущего, тормозящего и супертянущего состояний мостика, в уравнениях - полное число, число тянущих, тормозящих и супертянущих мостиков в половине саркомера соответственно; K_I - константа скорости замыкания поперечного мостика, K_{-I} , K_2 и K_3 - константы скоростей размыкания тянущих, тормозящих и супертянущих мостиков соответственно; f - сила мостика; V - скорость относительного скольжения толстой и тонкой нитей (скорость укорочения половины саркомера); $- \delta$ и $+ \delta$ - границы тянущего состояния с супертянущим и тормозящим; δ - средний интервал перемещения мостика после замыкания, на котором он развивает тянущую силу $+f$ ("шаг" мостика); N - число саркомеров вдоль волокна, T - величина нагрузки на мышцу; J - масса нагрузки.

Рис.2. Стационарное решение системы уравнений (1-3) рис.1: выражения для скорости сокращения (7), скоростей энерго- (8) и теплопродукции (9) совпадают по форме с уравнениями Хилла; величины параметров модели, полученные при сравнении стационарного решения с экспериментальными данными (10).

Рис.3. Приближение к стационарной скорости изотонического сокращения после быстрого освобождения тетанически стимулируемой мышцы (расчет эксперимента рис.4). Объяснения в тексте.

Рис.4. Укорочение мышцы, освобожденной через 1 мсек после ступенчатого укорочения (на 3% за 1 мсек); деление по ординате соответствует 0.3 мм длины мышцы, деление по абсциссе - 3 мсек; портняжная мышца лягушки, $l_0 = 31$ мм, $2^\circ C$, 30 имп/сек.

Рис.5. Переходные процессы после ступенчатого укорочения мышцы; a - типичная экспериментальная кривая; b - эквивалентная схема вязкоупругих свойств половины саркомера во время быстрых фаз переходного процесса, схема с обозначениями T_1 и T_2 иллюстрирует распределение укорочения ξ между демпфированной и недемпфированной упругостями в моменты, соответствующие развитию напряжений T_1 и T_2 на кривой a ; c - зависимость кажущегося коэффициента упругости недемпфированной компоненты от ампли-

туды укорочения, t ; d - зависимость силы демпфированной компоненты от ее укорочения, ξ , сила индивидуального мостика и распределение мостиков для изометрического сокращения (1) и для случая $T_2 = 0$ (2).

Рис.6. Расчетные кривые изменения силы во время и после ступенчатого укорочения мышцы для различных амплитуд укорочения Δl . Объяснения в тексте.

Рис.7. Автоколебания силы во время тетанического сокращения портняжной мышцы лягушки под изотонической инерционной нагрузкой; верхняя кривая - изменение длины, нижняя - переменная компонента силы мышцы (максимальная амплитуда составляет $0,1 T_0$, деление по абсциссе соответствует 100 мсек, 20°C , 30 имп/сек.

Рис.8. Расчетные кривые автоколебаний силы во время тетанического сокращения мышцы под изотонической инерциальной нагрузкой.

Рис.9. Сдвиг фаз между натяжением и длиной при различных частотах вынужденных колебаний длины; α - портняжная мышца лягушки, амплитуда - 1% длины мышцы, 20°C , 30 имп/сек /18/; β - глицеринированной *m. psoas* кролика, амплитуда 0,4%, 18°C , 5мм АТФ, 5мм MgCl_2 , 90мм KCl , $\text{pH}=6,8$, $\text{pCa}=6,95$ /18/.

Figure Legends

Fig.1. Top panel: elementary cycle of cross-bridge. Middle panel: dependences of cross-bridge force (solid line) and rate constants of transitions between significant states of the cycle (dashed lines) upon the crossbridge displacement ξ from the position of most probable attachment (from equilibrium position of free cross-bridge). Lower panel: equations of "kinetic" model. Right part of the figure corresponds to the contraction and the left one - to stretch of active muscle. Notations: α , h , m and p in the diagrams have the sense of free (detached), pulling, hindering and superpulling states of cross-bridges, in the equations they denote the whole number, the number of pulling, hindering and superpulling cross-bridges respectively in a half of a sarcomere; K_1 is rate constant of cross-bridge attachment; K_{-1} , K_2 and K_3 are rate constants of detachment of pulling, hindering and superpulling cross-links respectively; f is the cross-link force; v is the velocity of thick filament sliding relative to the thin one (the velocity of a half sarcomere shortening); $-\delta$ and $+\delta$ are boundaries of pulling region with the superpulling and hindering ones; $\bar{\delta}$ is mean distance of cross-bridge displacement from the position of attachment on which it develops pulling force $+f$ (cross-

bridge "step"); N is the number of sarcomeres along muscle fiber; T is the load and J is its inertia.

Fig.2. Steady-state solution of a set of equations (1-3) of Fig.1: expressions for contraction velocity (7), the rates of energy-(8) and heat productions (9) coincide in form with Hill's equations; the values of model parameters obtained when comparing of steady-state solution with experimental data (10).

Fig.3. The approach to steady-state velocity of isotonic contraction after quick release of tetanized muscle (calculations of experiment of Fig.4). Explanations are given in the text.

Fig.4. The shortening of the muscle, which was released after one millisecond pause after step-like shortening (3% in one millisecond); one division in ordinate corresponds to 0.3 mm of muscle length, in abscissa- to 3 msec; frog sartorius $l_0 = 31$ mm, 2°C , 30 pulses/sec.

Fig.5. Transient responses after stepwise muscle shortening; a - typical experimental curve /10,11/; b - an equivalent scheme of visco-elastic properties of half-sarcomere in the fast phases of transient response, the schemes with notations T_1 and T_2 give distribution of shortening l between damped and instantaneous elasticity at the moments corresponding to tension development T_1 and T_2 on the curve a ; c - dependence of apparent elastic coefficient, K_a , of instantaneous component on the amplitude of shortening, l ; d - the dependence of damped component force on its shortening, ξ , individual cross-link force and cross-link distribution for isometric contraction (1) and for the case $T_2 = 0$ (2).

Fig.6. Calculated curves of force transients in the course and after steplike muscle shortening of various amplitudes Δl . Explanations are given in the text.

Fig.7. Force selfoscillations during tetanic contraction of frog sartorius muscle under isotonic inertial load; upper trace-length change, bottom trace-oscillating component of the muscle force (maximal amplitude is $0.1 T_0$, one division in abscissa corresponds to 100 msec, 2°C , 30 pulse/sec).

Fig.8. Calculated curves of force selfoscillations during tetanic contractions under isotonic inertial load.

Fig.9. Phase shift between tension and length at various frequencies of driven length oscillations; a - frog sartorius, amplitude 1% of muscle length, 2°C , 30 pulse/sec /18/; b - glicerinated rabbit psoas, amplitude- 0.4%, 18°C , 5mM ATP, 5mM MgCl_2 , 90 mM KCl, pH = 6,8, pCa = 6,95 /18/.

THE THEORY OF MUSCLE CONTRACTION AND THE PARAMETERS
OF ELEMENTARY CONTRACTILE CYCLE

V. I. Deshcherevsky

Institute of Biological Physics, Acad. Sci., USSR,
Pushchino, Moscow Region, USSR

Essential part of results presented in this paper was obtained in collaboration with A. E. Bukatina, V. N. Buravtsev and M. F. Chaply.

In 1957 A. Huxley /1/ suggested a mathematical description of the sliding-filament mechanism and showed, that his model is in accordance with known dynamic and energetic properties of a striated muscle, which are expressed by Hill's equations. In the recent years several modifications of this model were suggested, which under appropriate choice of the parameters are capable to describe isometric twitch /2/, selfoscillations of insect flight muscles /2,3/ and transient responses on steplike decrease of the load /4,5/. However to describe various regimes of contraction it was necessary to introduce new adjusted parameters and prescribe various values to the model parameters which give force properties of cross-link and rate constants of cross-bridge attachment and detachment. So the question may arise: whether it is possible to describe steady-state and transient regimes of contraction in terms of a single model under the single choice of the parameters.

In 1968 we attempted to describe muscle contraction as transitions of crossbridges between small number of mechanically significant states /6/. It was assumed that the attached cross-bridge may be in two states: in the "pulling" one it develops constant positive force $+f$, in the "hindering" one constant negative force $-f$. From the free (detached) state the cross-bridge transits into the pulling one in which it has low probability of detachment.

After the displacement which is coupled with filament sliding, for the distance δ from the position of most probable attachment (equilibrium position of free cross-bridge) it transits into the hindering state, in which it has high probability of detachment.

The scheme of an elementary cycle, force characteristic of cross-link and rate constants of attachment and detachment and equations of the model for the case of muscle contraction is given in the right part of Fig. I. Cross-bridge transitions between the free, pulling and hindering states are governed by the "kinetic" equations (1) and (2). Muscle force is expressed as $f(n-m)$. Equation (3)

governs the motion of the load T , which has inertia J . It should be noted, that effective rate constant of cross-links transition from the pulling state into the hindering one is of mechanical nature and is expressed as V/δ where V is the velocity of filament sliding and δ - means the distance of cross-link movement in the pulling state. Cross-bridge current into the pulling state is governed by the term $K_1(\alpha - n - m)$ (see Eq.1), which may be true if all the free cross-bridges have equal probability of attachment. In equation (I) the detachment of pulling cross-link is disregarded since the rate constant K_2 , which may be evaluated from tension decay in muscle relaxation // is small in comparison with K_1 for the case of intensively activated muscle.

So the kinetic equations (I,2) represent a rather rough model of the cross-bridge action in a contracting muscle. However, the known contractile properties can be interpreted quantitatively in its terms. The parameters of this model can be determined in single manner from a small number of experimental data and it will be shown, that various regimes of muscle contraction are described under the same values of the parameters. On the other hand some experiments were stimulated by this model which demonstrates the limits of its application and probable ways of its improvement.

The set of equations (I-3) allows to calculate the muscle contraction dynamics under various conditions. The most simple case for this model is to describe the contraction with constant velocity. The expression for the steady-state velocity of contraction has the form of Hill's characteristic equation (equation 7, Fig.2). When the rate of contraction is constant the rates of energy and heat production are expressed by equations (8) and (9) and are in agreement with Hill's data under appropriate choice of the parameters.

There are five parameters in the kinetic model. Three relations between them are obtained by comparing the steady-state solution with Hill's equation. The number of myosin projections, α , can be estimated from structural data. If the cross-bridge maximal work in the cycle, $f \times \delta$ is supposed, as usual, to be equal to the energy of ATP hydrolysis, ϵ , the parameters of the working cycle can be evaluated in following way (Fig.2) absolute value of a cross-bridge force, $f = 0.3 \cdot 10^{-7}$ dynes, the length of "pulling" region, $\delta = 100 \text{ \AA}$, the rate constant of attachment, $K_1 = 50 \text{ sec}^{-1}$, and the rate constant of detachment of hindering cross-bridges, $K_2 = 150 \text{ sec}^{-1}$.

It should be noted that this estimation is a very approximate one, since the accuracy of some experimental data used leaves much to be desired. In order to obtain more precise values of the parameters the investigation of the model behaviour under some unstationary conditions was performed.

The most informative regime appeared to be the unloaded contraction of a tetanised muscle after quick release.

In cases when one can ignore the inertia of registering system and that of the load, equation (3) of Fig.1 can be reduced to algebraic relation $fx(n-m)=p$ and the solution of the whole system can be obtained analytically. After stepwise decrease of the load from p_0 to p , the approaching to steady-state contraction occurs monotonically. The initial velocity is more than a stationary one under low jumps of load (at $A = \frac{p}{p_0} > \frac{1}{q-1}$; $q = \frac{K_2}{K_1}$). When $A < \frac{1}{q-1}$ the initial velocity is less than the stationary one and the curve of shortening, when the load is released, is shown in Fig.3. Time of "lag phase" in common case is given by equation (II). If the load is released from p_0 to 0, the initial velocity is a half of the steady state one, and the lag period τ^0 and presteady-state shortening l_p^0 are related with constants K_1 and δ in simple relations (equations I2 and I3, Fig.3). These formulae contain the ratio $\frac{K_2}{K_1} = q$ which can be determined from the dependence of stationary velocity upon the load ($q = 2 \div 3$). However, the influence of this parameter is relatively weak.

Careful experimental study of transient regimes after stepwise change of the load was carried out by Givan and Podolsky /8/. However, the technique applied did not allow to study the dynamics of muscle shortening when the load is released from p_0 to values less than 0,2 p_0 . Under these conditions the mass of muscle itself becomes essential, and initial phase of contraction is carried out at the expense of energy release which was stored up in series elastic component during isometric contraction. So, the following scheme of the experiment was accepted to determine the dynamics of frog sartorius muscle contraction after quick change of the load from p_0 to 0. Tetanically stimulated muscle having developed maximal tension was shortened by 2-3 per cent during 1 msec by the driven shift of the muscle end so that the tension decreased to 0. After the pause of one msec the other end of the muscle was liberated and its movement was registered. Experimental curves (Fig.4) coincide in shape with theoretical ones, this allows to determine values of the parameters:

$\tau^0 = 3,5+4,5$ msec, $l_p^0 = 0,5$ per cent of muscle length l_0 . If $q = 3$, then $K_2 = 200+250$ sec⁻¹, $K_1 = 65+85$ sec⁻¹ and $\delta = 80$ Å. The last parameter can be determined independently from the relation $K_2\delta = V_{max}$ from where $\delta = 60+75$ Å, that is in accordance with the preceding estimation.

The curves of force redevelopment after quick release obtained by Jewell and Wilkie /9/ are described by the theory under similar values of parameters /7/. Transient responses with high time resolution observed recently by Huxley and Simmons /10/ detected the existence of damped elasticity of muscle which is probably conditioned by

conformational rearrangement of actomyosin cross-links. In this case this component is to be directly connected with cross-bridge step δ and the force characteristics of cross-link.

We did not concretize the nature of damping, but tried to determine the "length - tension" dependence for the damped as well as for instantaneous elastic component using four curves published by A.Huxley /II/.

Quick phase of tension change as a result of stepwise shortening of muscle fibre occurs during some milliseconds (Fig.5a). If the estimation of constants of kinetic model given above is reliable in order of value, then the attachment and detachment of cross-bridges in this phase can be disregarded. Viscoelastic properties of the sarcomere half in this time interval can be represented by the scheme 5b and described by the following equation

$$F(\xi) - \lambda \xi = T_0 - K(\ell - \xi) \quad (I4)$$

The sense of variables of this equation is clear from Fig.5. An apparent coefficient of elasticity of undamped component

$K_a = \frac{T_0 - T_1}{T_0} / \frac{100\ell}{0,55}$ (ℓ - sarcomere length, K_a is expressed in T_0 per cent of fibre shortening) is linearly decreasing with the rise of the amplitude of shortening ℓ (Fig.5c). It may be supposed that the true elasticity coefficient K is not dependent on ℓ , and the dependence observed is conditioned by partial shortening of damped component during driven change of a fibre length. In experiments /II/ this time is approximately proportional to the amplitude of shortening, that is

$$\ell = V \cdot t \quad (I5)$$

where $V \approx 2 \cdot 10^{-3}$ cm/sec. Since during the time of driven shortening of fibra the length change of damped component is small, one can consider that

$$F(\xi) = T_0 - K \xi \quad (I6)$$

Under conditions (I5) and (I6) the solution of the equation (I4) gives the following expressions for shortening of damped component ξ , the amplitude of force change $T_0 - T_1$ and the apparent coefficient elasticity of undamped component K_a :

$$\left. \begin{aligned} \xi &= \ell \frac{\tau}{\tau_0} - V \frac{\tau^2}{\tau_0} \left(1 - \exp\left[-\frac{\ell}{V\tau}\right] \right) \\ \tau_0 &= \frac{\lambda}{K}; \quad \tau = \frac{\lambda}{K + X} \end{aligned} \right\} \quad (I7)$$

$$\left. \begin{aligned} T_0 - T_1 &= K(\ell - \xi) = K\ell \left(1 - \frac{\tau}{\tau_0}\right) + KV \frac{\tau^2}{\tau_0} \left(1 - \exp\left[-\frac{\ell}{V\tau}\right]\right) \\ \text{at } \ell \ll V\tau \quad T_0 - T_1 &= K\ell \left(1 - \frac{\ell}{2V\tau}\right) \end{aligned} \right\} \quad (18)$$

$$K_a = \frac{T_0 - T_1}{\tau_0} / \frac{100\ell}{0,5S} = \frac{S}{200\tau_0} \left(1 - \frac{\ell}{2V\tau}\right) K \quad (19)$$

Correlating equation (19) with the graph 5c, it is possible to estimate true elastic coefficient of undamped component, K , time of relaxation τ_0 and "friction" coefficient λ . Normalizing them on isometric tension value T_0 and the sarcomere length s we get the following estimations: $K = 1,5 T_0$ per 1 per cent of shortening, $\tau_0 = 10^{-3}$ sec, $\lambda = 1,5 \cdot 10^{-3} T_0 / \frac{1 \text{ per cent of shortening}}{\text{sec}}$.

Direct estimation of relaxation time in phase of force redevelopment when driven shortening is stopped correlates well with the value given above. After determination of true elastic coefficient of undamped component it is not difficult to estimate the dependence of the force of damped element on its shortening:

$$F(\xi) = T_2(\xi) = T_2 \left(\ell - \frac{T_0 - T_2}{K} \right) \quad (20)$$

that follows directly from Fig. 5b. This dependence is shown in Fig. 5d. It can be explained in terms of "kinetic" model by the movement of rectangular distribution of cross-links from position (1) to position (2) along ξ . It follows from this dependence that the force of an individual cross-link is constant in wide range of displacement, as it was supposed in our model. The length of pulling region determined in such a way is equal to 80 Å.

These estimations can be reasonable if the solution of kinetic equations at such values of parameters λ and K as obtained above, and at the accepted rate constants of cross-bridge attachment and detachment will give the tension curves which can be subdivided into fast and slow phases. If the inertia of muscle and registering system can be ignored and "viscous" resistance to cross-link movement and series elastic component are taken into consideration without concretizing their nature and localisation then instead of equation (3) in Fig. 1 the following expression should be written:

$$\left. \begin{aligned} V &= \frac{1}{\lambda} [T_0 - K(\ell - \xi) - f \cdot (n - m)] \\ \xi &= \int_0^t V \, dt \quad \ell = \begin{cases} V \cdot t & \text{at } V \cdot t \leq \Delta \ell \\ \Delta \ell & \text{at } V \cdot t > \Delta \ell \end{cases} \end{aligned} \right\} \quad (21)$$

Calculated curves according to the set of equations (I,2,2I) for various amplitudes of muscle shortening Δl under initial conditions $n(0) = \alpha$, $m(0) = \xi(0) = 0$ are given in Fig.6. The values of driven shortening velocity V , elasticity and viscous coefficient K and λ , as well as K_1 and K_2 are taken from the preceding estimations. The calculated curves as well as experimental ones have, obviously, fast and slow phases of force changes.

Thus, different ways of the parameter evaluation of the kinetic model from various regimes of muscle contraction give close values. This allows to consider that a model given reflects to some extent the real processes occurring in the contracting muscle. It is interesting to note that this kinetic model is applicable to the insect flight muscle /7,12/ and gives reasonable value and correct dependence of power output upon the frequency under nearly the same parameter values as determined above.

Somewhat unexpected result was obtained by analysing the model behaviour in the case of muscle contraction with inertial load. The movement to the steady-state had an oscillating component even though passive elasticity was excluded from the equations. In the experiment performed on the sartorius muscle of a frog /13/ the force oscillations have been registered under isotonic conditions. Their frequency is determined by load value and inertia and is independent of the frequency of stimulation. These oscillations, undoubtedly, are of active nature (see Fig.7): under some conditions the amplitude of oscillations increases in the course of contraction. Sometimes double-frequency oscillations are observed.

The set of equations (I-3) (Fig.I) which was considered gives only damped oscillations and fails to describe more complicated behaviour of the muscle. Undamped and double-frequency oscillations are obtained in the theory, if the kinetics of cross-links transition from the pulling state into the hindering one is calculated more accurately. Really, the cross-bridge current through the states boundary, δ is not determined by their averaged concentration over pulling region α/δ , but by their actual concentration at this position (see Fig.I). If all the cross-bridges make cross-links at $\xi = 0$, then their concentration at δ -position in moment t is equal to that at the point $\xi = 0$ in the moment $t - \tau$, where τ is the time interval of cross-link movement through the pulling region. This mechanism is taken into consideration by introducing delayed terms in the equations. These equations have no steady-state solution, if all projections make cross-links at $\xi = 0$. Real behaviour of the muscle, including all types of curves of Fig.7 has been obtained (Fig.8) when the probability of attachment is constant for all projections with

$-0,8\delta \leq \xi \leq 0,8\delta$ and equals to zero at other values of ξ . It may be interesting to note that the shortening during the time of one pulsation was about cross-bridge step, δ , in all double-frequency curves calculated by us.

However, on the experimental curves corresponding shortening is about 3-4 per cent of muscle length. Such value of filament displacement corresponds to axial periods of active sites on the filaments rather than to cross-bridge step δ . So, mechanism of force self-oscillations under isotonic conditions needs further experimental and theoretical examinations.

Probably, to explain some regimes more detailed ideas on contractile mechanism are required. However, we may conclude that many features of muscle dynamics can be understood in terms of a very rough model.

This allows to consider the proposed kinetic scheme as the first approach to the molecular nature of elementary contractile cycle. In this connection the questions may arise: whether it is possible to simplify the model in the scope of the scheme under consideration and what relation exists between the postulated significant states of the cross-bridge and its actual molecular transitions in the active muscle.

There is little doubt that both attached and free states of cross-bridges do exist in the active muscle and are significant for its mechanical behaviour. So, to simplify the model one may try to consider only one significant state of an attached cross-bridge instead of two. The model of such a type was suggested recently by Chaplain and Frommelt /14/. In this model an attached cross-bridge develops only positive force the magnitude of which linearly decreases with the speed of contraction and equals to zero under unloaded contraction. The cross-bridge gets free after displacement for the distance δ , so that one of the rate constants in this model has a mechanical nature and is expressed in the same manner as the rate of transition from pulling into hindering state in our model.

Chaplain and Frommelt have demonstrated that their model is in a good accordance with the energy and heat production data on isotonic steady-state contraction. The similar model was examined by Buravtsev. He obtained analytic solutions for both steady-state and transient regimes and for force kinetics under driven length oscillations. It may be concluded that such "reduced" model is capable of describing about the same number of experimental data as the kinetic model does.

It may be useful to find the reasons for such dynamic likeness of reduced model and the kinetic one and to show possible points of their discrepancy. It should be noted that the first model contains just the same number of adjusted parameters as the second one and can not be regarded as a simpler model in this sense. Under steady-state conditions these two models are mathematically equivalent and can show similar behaviour under conditions close to the steady-state ones. However, under sharply non-stationary conditions their behaviour differs essentially.

In the reduced model there is no possibility for crosslinks movement with the speed exceeding that of unloaded steady-state contraction. In the kinetic model the speed

of cross-link and the filament displacement for the distance δ can be limited by the viscous resistance of sarcoplasma or by inherent time of the cross-link conformational rearrangement. The latter is taken to be small in comparison with $1/k_2$, hence the transient speed can exceed the maximal steady-state one. In the transient responses obtained by Huxley and Simmons /10,11/ the initial velocity of contraction of damped elastic component, i.e. the velocity of cross-link relaxation exceeds 7-10 times steady-state velocity of filament sliding under unloaded contraction. So, the cross-link inherent "friction" can not restrict the velocity of unloaded contraction. The hindering force of individual cross-link is rather of potential nature as suggested in kinetic model.

This question is closely associated with the problem of energetic structure of cross-link real conformational states. Cross-bridge being a molecular object must fluctuate intensively. So its mechanical characteristics such as force and displacement have the sense of time average magnitudes (time interval of averaging is taken to be small as compared to contractile processes). The force characteristics assumed by Cnaplain and Frommelt /14/ mean that cross-link at filament sliding passes a number of relatively stable positions with progressively lowering energy and separated by high energetic barriers. The force characteristics assumed in kinetic model /6,7/ suggest a number of states with progressively lowering energy for pulling region of displacement and with rising energy for hindering region. These states are assumed to be separated by low barriers.

Under the assumption that the number of real energetic states of cross-bridge is small one can try to obtain its averaged mechanical characteristics in terms of the theory of rate processes.

The first application of this theory to individual cross-bridge kinetics was given probably by Volkenstein /15/. Recently Huxley and Simmons /10/ gave a very attractive interpretation of their own results on transient responses of a muscle in terms of the theory of rate processes. However, consideration of such a type will probably have an illustrative nature as long as the number of the cross-bridge stable positions and their energetic structure remains a matter of choice. Probably some information on this question can be obtained by the determination of cross-bridge cycle parameters from the experiments in which contractile system acts under various physico-chemical conditions. The first step on this way is to find suitable experimental muscle models in which contractile system will act under controlled conditions and in which these conditions can be chosen nearly physiological. If dynamics of such experimental system described by the same mathematical model as a native muscle is, then the comparison of contractile mechanisms is possible in terms of model parameters. We tried to study the dependence of velocity of glycerinated fibre of a rabbit psoas muscle contraction upon the load.

However we failed to obtain steady-state contraction of these samples: the velocity was monotonously decreasing in the course of contraction under constant load. One of the probable causes of such behaviour is the redistribution of sarcomere lengths during isometric contraction of sample in activating media. About 10 seconds are required to reach the steady-state concentrations of reagents but this time it seems to be too long for isometric contraction of a fast muscle. We really observed regions with shortened (up to $1,8 \mu$) and stretched (up to $2,9 \mu$) sarcomeres along glycerinated fibers in activating solution, though initial sarcomere lengths were $2,3-2,5 \mu$. Other probable reason of steady-state contraction lack may be of chemical nature. When the sample is released the production rates of Pi and ADP are increased and new steady-state concentrations cannot be reached during the time of contraction.

For this reason we tried to compare the behaviour of glycerinated and native muscles under driven length oscillations, when ATP hydrolysis rate is low. In this regime the behaviour of glycerinated rabbit psoas fibres is similar to that of native frog sartorius muscle stimulated tetanically (Fig.9). Phase shift between tension and length in some range of frequency is negative, that conforms to negative friction of the sample. The curve for glycerinated fibres has the shape similar to that of native muscle, but is shifted to the region of lower frequencies. So, we may hope, that in both cases the same mathematical model is applicable, though time scales differ 10-fold. However, the possible interpretation of these curves in terms of kinetic model /16/ is rather complete and there is no possibility to determine model parameters in single manner from these curves. There is a possibility to obtain some information about myosin-actin-ATP interactions in solutions from steady-state ATP-ase kinetic data. For this purpose we have suggested the cyclic mechanism of ATP-ase activity of actomyosin systems of structured and unstructured types in solutions /17/. The proposed scheme is similar to usually postulated cyclic mechanism of cross-bridge action in muscle. From this point of view an enzymatic act of ATP hydrolysis is a result of the whole myosin-actin association-dissociation cycle, but not of any single stage of this cycle.

Such an approach, allows to estimate the possible role of filamentous organization of myosin and actin active sites in fermental kinetics of ATP splitting. Such organization results in the "lowering of activation energy" of hydrolysis /17/. We assume, that the connection between the active sites (attached cross-bridges between the pair of filaments) makes possible the utilization of some part of ATP energy for the lowering of activation barrier of the limiting stage of myosin-actin interaction cycle. Namely, the energy which is released on one active site (on the "pulling cross-link") can due to filament sliding result in the deformation of other active site ("hindering cross-link"), increasing the probability of myosin-actin dissociation.

Deformation of actomyosin active site coupled with cross-bridge transition into the hindering state facilitates probably product (ADP and Pi) dissociation, which is according to Lyman and Taylor /19/ a rate-limiting step of acto-HMM cycle of ATP hydrolysis. Rate constant of this step ($10-20 \text{ sec}^{-1}$ at 20°C /19/) corresponds to that of pulling cross-bridge detachment ($5-7 \text{ sec}^{-1}$ at 0°C /7/) being rate limiting under isometric conditions, as all cross-bridges are in the pulling state in this case. Under unloaded contraction half of cross-links is in the unstable hindering state in which rate constant of detachment is increased 30-40 fold. This corresponds to 2 cal lowering of activation barrier for rate-limiting step of cross-bridge detachment (for ADP and Pi dissociation if ATP concentration is sufficiently high).

Proposed mechanism can be regarded as mechanochemical feedback which regulates the rate of energy release in muscle.

See: References: pp 417-418
Figures: pp 419-424
Figure Legends: pp 425-427