

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ И ПОСТУЛАТЫ  
КИНЕТИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

В. И. Дещеревский

Институт биологической физики АН СССР, Пушкино

Основные принципы работы надмолекулярной конструкции сократительного аппарата поперечнополосатых мышц, выраженные в так называемой "гипотезе скольжения" [1,2,3], могут быть сформулированы в математической форме. Анализ возникающей при этом математической схемы затруднителен. Однако при некоторых допущениях из нее можно получить систему уравнений, описывающих "кинетическую" ("газовую") модель мышечного сокращения, которая была сформулирована ранее постулативно [4]. Детальное исследование этой модели показало [4,5,6], что она хорошо описывает термомеханические свойства сокращающихся поперечнополосатых мышц позвоночных и насекомых. Вывод "кинетической модели" из общей математической схемы, базирующейся на известных экспериментальных данных, позволяет уточнить смысл постулатов, лежащих в ее основе, и тех ограничений, которые они накладывают на молекулярный механизм элементарного сократительного акта.

Сводка основных экспериментальных фактов. 1. Сократительный аппарат мышечного волокна состоит, как правило, из  $\sim 10^4$  последовательно соединенных одинаковых элементов – саркомеров, каждый из которых содержит  $\sim 10^6$  нитей двух сортов (толстых и тонких). Изменения саркомера при сокращении схематично изображены на рис. 1. Правая и левая половины саркомера зеркально симметричны [7]. 2. Взаимодействие основных мышечных белков миозина и актина – необходимое условие сокращения [8]. 3. Миозин и актин локализованы соответственно в толстых и тонких нитях, которые контактируют только через миозиновые мостики (М) [9]. 4. В покоящейся мышце миозиновые мостики на толстых нитях расположены строго упорядоченно [10]. В средней части толстой нити мостики отсутствуют [7]. 5. В сокращающемся саркомере решетки из толстых и тонких нитей вдвигаются одна в другую. Длина и структура тонких нитей во время сокращения не меняется. Длина толстых нитей также не меняется, но нарушается упорядоченность в расположении миозиновых мостиков (размываются соответствующие рефлексии на малотуговой рентгенограмме) [10]. 6. Гексагональная упаковка нитей (см. рис. 1, б) при сокращении не нарушается [11]. 7. Любой из мономеров актина, из которых построены тонкие нити, является потенци-

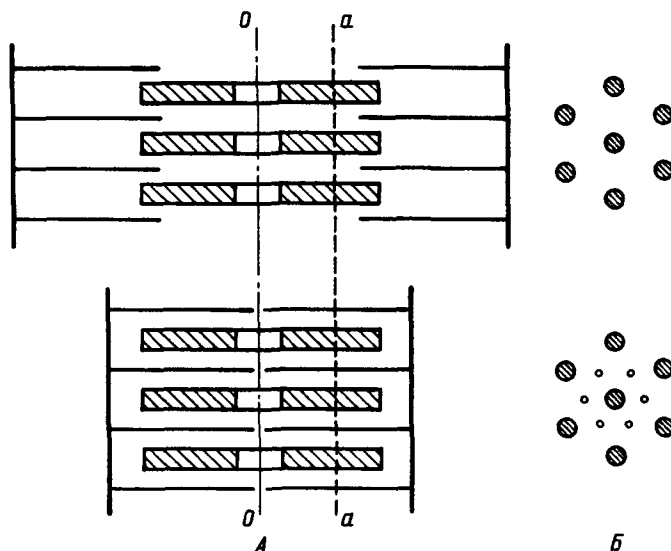


Рис.1. Схема изменения саркомера при сокращении

А - продольный разрез; 00 - плоскость симметрии; миозиновые мостики расположены на заштрихованных участках толстых нитей. Б - поперечный разрез по линии aa

альным акцептором (А) миозинового моста [12]. 8. Максимальная сила, развиваемая саркомером при постоянной длине, пропорциональна числу миозиновых мостиков в зоне перекрытия толстых и тонких нитей [13].

#### Принципы работы сократительного аппарата

1. Из п.1 и рис.1 очевидно, что сила, регистрируемая на концах мышечного волокна, равна силе, развиваемой в любой из половинок любого саркомера (при всех режимах сокращения инерционными силами внутри мышцы можно пренебречь). Скорость укорочения волокна  $V=2Nv$ , где  $N$  - число саркомеров, а  $v$  - скорость относительного движения толстых и тонких нитей. 2. Из п.п.2,3,5 и 8 следует, что источником сократительной силы мышцы являются замкнутые миозиновые мостики. Механическая роль тонких нитей - суммирование напряжения, развиваемого всеми ( $M$ ), присоединенными к ним. Из дискретности расположения миозиновых мостиков и их актиновых акцепторов и из несжимаемости нитей (п.5) следует, что каждый мостик при сокращении должен рабо-

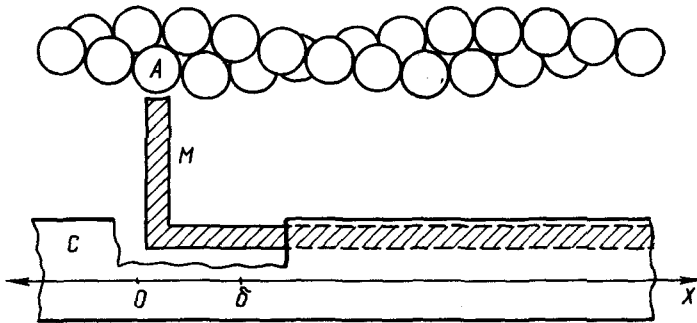


Рис.2. Схема взаимодействия протофибрилл.

А - мономер Г-актина в тонкой нити; М - мостик и молекула миозина в толстой нити; С - гипотетический "жесткий стержень" толстой нити, с которым связана система координат  $Ox$ .

тать циклически: замыкаться, развивать движущую силу на некотором интервале относительного перемещения нитей и затем размыкаться. Ш. Из п.6 следует, что сократительный аппарат можно рассматривать как принципиально одномерную систему: перпендикулярные к оси волокна компоненты сил либо скомпенсированы, либо малы по сравнению с осевыми компонентами. Это позволяет ограничиться рассмотрением взаимодействия пары нитей - толстой и тонкой - и считать, что каждая половина саркомера представляет набор таких одинаковых пар.

Принципы I, II и Ш являются современной формулировкой схемы скольжения (см. например, [3, 14]). Физическая модель, соответствующая этим принципам, поясняется рис.2. Положение (М) относительно некоторой точки на "жестком стержне" толстой нити характеризуется координатой  $x$ . Замкнутый мостик скользит вдоль жесткого стержня со скоростью относительного движения нитей, т.е. для него  $\frac{dx}{dt} = v$ . Сокращение мышцы в терминах такой модели можно рассматривать как одномерные потоки замкнутых и разомкнутых мостиков с распределенными источниками и стоками.

**Предположение первое.** Процессы замыкания и размыкания мостиков подчиняются мономолекулярной кинетике, т.е. мостики считаются независимыми. Применительно к замыканию это означает также, что частота "соударений" (М) и (А) не является лимитирующим звеном этого процесса и константа скорости замыкания не зависит от  $v$ . Возможность такого предположения вытекает из п. 7.

Динамика изменения линейной плотности замкнутых -  $\rho(x, t)$ , и разомкнутых мостиков  $\varphi(x, t)$  описывается следующими уравнениями:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = K_1(x) \cdot \varphi(x, t) - K_2(x, v) - v \frac{\partial \rho}{\partial x} \quad (1)$$

$$(2)$$

$$\frac{\partial \varphi}{\partial t} = -K_1(x) \varphi(x, t) + K_2(x, v) \cdot \rho(x, t) - K'(x) [\varphi(x, t) - \varphi(x) \int_{-\infty}^{\infty} \varphi(x, t) dx],$$

где  $K_1(x)$  - константа скорости замыкания свободных мостиков с координатой  $x$ ;  $K_2(x, v)$  - константа размыкания замкнутых мостиков с координатой  $x$  при скорости скольжения  $v$ ;  $\varphi(x)$  - форма равновесного распределения свободных мостиков;  $K'(x)$  - константа скорости установления равновесного распределения.

$\varphi(x)$  нормируется на 1

$$\int_{-\infty}^{+\infty} \varphi(x) dx = 1 \quad (3)$$

Полное число миозиновых мостиков в зоне взаимодействия нитей может зависеть только от длины саркомера

$$\int_{-\infty}^{+\infty} (\rho + \varphi) dx = \alpha(\ell), \quad (4)$$

где  $\ell$  - укорочение половины саркомера.

Очевидные граничные условия для уравнений (1) и (2) - обращение  $\rho$  и  $\varphi$  в 0 на бесконечности. Если известна зависимость элементарной силы, развиваемой одним замкнутым мостиком от  $x$  и  $v$ , то полная сила, развиваемая половиной саркомера в момент времени  $t$

$$F(t, v) = \int_{-\infty}^{\infty} f(x, v) \rho(x, t) dx. \quad (5)$$

Для движения нагрузки, присоединенной к мышце под действием силы, развиваемой мышцей, и внешней силы  $P$ , пренебрегая трением, запишем:

$$M_2 \cdot 2N \frac{dv}{dt} = F(t, v) - P(L) \quad (6)$$

где  $M_2$  - эффективная масса нагрузки;  $N$  - число саркомеров;  $L$  - укорочение мышцы равно  $2N\ell$ . Очевидно,  $\frac{d^2 L}{dt^2} = 2N \frac{dv}{dt}$ .

Система уравнений (1), (2), (6) с условиями (3), (4), (5) является математической формулировкой гипотезы скольжения при дополнительном предположении первом. В таком виде она не пригодна для описания мышечного сокращения, поскольку функциональные зависимости  $K_1(x)$ ,  $K_2(x, v)$ ,  $K'(x)$  и  $f(x, v)$  не могут быть определены из существующих экспериментальных данных. Однако эту схему можно упростить, если сделать ряд допущений.

Предположение второе. Скорость конформационных макромолекулярных перестроек, приводящих к скольжению замкнуто-

го мостика вдоль толстой нити, контролируется относительным перемещением нитей и потому много меньше скорости обратных перестроек, возвращающих разомкнутый мостик в равновесное положение. Это означает квазиравновесность молекулярных перестроек, когда мостик замкнут, и, следовательно, независимость  $K_2$  и  $f$  от  $x$ :  $K_2 = K_2(x)$  и  $f = f(x)$ . Это предположение также означает, что  $K'(x) \gg K_1(x)$  и  $K_2(x)$  при всех  $x$ .

Предположение третье. Элементарная сила, развиваемая замкнутым мостиком, постоянна по величине. От  $x$  зависит направление силы. Области значений  $x$ , в которых сила сохраняет знак — односвязны. Если принять за начало координат центр тяжести кривой распределения свободных мостиков, то

$$\left. \begin{aligned} f(x) = f > 0 \text{ при } x < \delta \\ f(x) = -f < 0 \text{ при } \delta < x \end{aligned} \right\} \quad (7)$$

Предположение четвертое.  $K_2(x) = 0$ , когда  $f(x) > 0$  ( $x < \delta$ ) и  $K_2(x) = K_2 = \text{const}$ , когда  $f(x) < 0$  ( $\delta < x$ ) (8) Согласно предположениям третьему и четвертому, замкнутый мостик может находиться в двух состояниях: в "тянущем" состоянии  $f(x) = f > 0$  и  $K_2(x) = 0$  ( $x < \delta$ ), и в "тормозящем" —  $f(x) = -f < 0$  и  $K_2(x) = K_2 > 0$  ( $\delta < x$ ).

Гипотетический элементарный рабочий цикл миозинового мостика можно описать следующим образом. Замыкание мостика (образование связи (M-A) делает выгодной конформационную перестройку молекулы миозина или ближайшего к мостику участка толстой нити (перестройку на уровне вторичной, третичной или четвертичной структуры), которая приводит к скольжению мостика вдоль толстой нити и, следовательно, к относительному перемещению нитей. Мостик при этом развивает положительную силу до тех пор, пока не закончится конформационная перестройка. При  $x = \delta$  активная конформационная перестройка заканчивается, осевая проекция силы, развиваемой мостиком, проходит через ноль и при дальнейшем скольжении становится отрицательной, а мостик получает возможность разомкнуться. Разомкнувшись, мостик "мгновенно" возвращается в равновесное положение — происходит быстрая обратная конформационная перестройка, во время которой замыкание практически невероятно. Какая-то из стадий элементарного цикла сопряжена с гидролизом одной молекулы АТФ.

Поделив правую и левую часть уравнения (2) на  $K'(x)$  и переходя к пределу при  $K' \rightarrow \infty$  (см. предположение второе), получим

$$q(x, t) = \varphi(x) \int_{-\infty}^{\infty} q(x, t) dx = \varphi(x) \cdot g(t), \quad (9)$$

где  $g(t)$  — полное число свободных мостиков в момент времени  $t$ . Ин-

тегрируя уравнение (I) по  $x$  от  $-\infty$  до  $\delta$ , с учетом (8) и (9), получим

$$\frac{d}{dt} \int_{-\infty}^{\delta} \rho(x, t) dx = g(t) \int_{-\infty}^{\delta} K_1(x) \psi(x) dx - \nu \rho \Big|_{-\infty}^{\delta} \quad (10)$$

Интеграл в левой части (10) представляет полное количество "тянущих" мостиков. Обозначая его через  $n$  и учитывая, что  $\rho(-\infty) = 0$ , получим:

$$\frac{dn}{dt} = K_1 g(t) - \nu \rho(\delta, t), \quad (11)$$

где  $K_1 = \int_{-\infty}^{\delta} K_1(x) \psi(x) dx$  - среднее значение константы скорости замыкания свободных мостиков. Из п.9 следует, что  $\psi(x)$  отлична от 0 в очень узкой области значений  $x$ . Мы будем считать, что эта область много меньше интервала  $(0, \delta)$ . Тогда для квазистационарных режимов сокращения можно считать, что

$$\rho(\delta, t) = \frac{n(t)}{\delta} = K_{-1} \cdot n. \quad (12)$$

Интегрируя (I) по  $x$  от  $\delta$  до  $+\infty$ , аналогично получим

$$\frac{dm}{dt} = -K_2 m + \nu \rho(\delta, t), \quad (13)$$

где  $m = \int_{\delta}^{\infty} \rho(x, t) dx$  - полное число "тормозящих" мостиков. Из (4) следует, что  $g(t) = d(l) - n - m$ , поэтому, с учетом (12), окончательно будем иметь

$$\frac{dn}{dt} = K_1 [d(l) - n - m] - K_{-1} \nu n \quad (14)$$

$$\frac{dm}{dt} = K_{-1} \nu n - K_2 m \quad (15)$$

Из (5) с учетом (7) получим  $F(t) = f(n - m)$ , а вместо (6) запишем

$$\frac{dv}{dt} = \frac{1}{2NM_3} \cdot [f(n - m) - \rho(L)]. \quad (16)$$

Очевидно также, что

$$\frac{dl}{dt} = v. \quad (17)$$

Система уравнений (14) - (17) была исследована в работах [4, 5, 6], где показано, что она хорошо описывает различные режимы сокращения скелетных мышц позвоночных и летательных мышц насекомых в условиях тетанической стимуляции, т.е. при постоянной концентрации ионов  $Ca$ , активирующих сократительную систему. В данной модели считается, что миофибрилярный  $Ca^{++}$  контролирует величину  $K_1$ . Обычно мы полагали,

что в момент начала стимуляции мышцы ( $t=0, n=m=0, v=0, \ell=0$ ) константа скорости замыкания скачком возрастает от 0 до  $K_1$ . Для изотонического сокращения ( $P(L)=P$  - не зависит от  $L$ ) в физиологическом диапазоне длин мышцы ( $\alpha(\ell)=\alpha_0$  - не зависит от  $\ell$ , см. п.4) из условия стационарности для системы уравнений (I4) - (I6) получается зависимость скорости  $v$  от нагрузки  $P$ , имеющая вид эмпирического уравнения Хилла:

$$\left( P + \frac{K_1}{K_1 + K_2} f \alpha_0 \right) v = \frac{K_2}{K_1} \frac{K_1}{K_1 + K_2} (f \alpha_0 - P) \quad (I8)$$

Очевидно,  $f \alpha_0 = P_0$  представляет максимальную силу, которую может развить мышца ( $v=0$ ), а  $\frac{K_2}{K_1} = v_m$  - максимальная стационарная скорость сокращения ( $P=0$ ), поэтому константы  $a$  и  $b$  уравнения Хилла можно выразить следующим образом:

$$a = \frac{K_1}{K_1 + K_2} P_0 \quad b = \frac{K_1}{K_1 + K_2} v_m \quad (I9)$$

Для скорости выделения энергии и теплопродукции в сократительной системе мышцы (без учета теплоты активации) получаются следующие выражения:

$$\frac{dE}{dt} = \frac{\epsilon K_1 K_2}{f(2K_1 + K_2)} (f \alpha_0 - P) = \text{const} (P_0 - P) \quad (20)$$

$$\frac{dB}{dt} = \frac{dE}{dt} - P v = v \left[ \frac{\eta K_1}{2K_1 + K_2} P_0 + \frac{\eta(K_1 + K_2) - (2K_1 + K_2)}{2K_1 + K_2} P \right], \quad (21)$$

где  $\epsilon$  - энергия гидролиза молекулы АТФ, а  $\eta = \frac{K_1 \epsilon}{f} = \frac{\epsilon}{f \delta}$  - величина, обратная максимальному коэффициенту полезного действия элементарного рабочего цикла.

Сравнение формул, описывающих стационарный режим сокращения, с экспериментальными данными позволяет определить численные значения всех констант, входящих в систему (I4) - (I7), и перейти к расчету нестационарных режимов сокращения.

Для изотонического сокращения ( $P = \text{const}$ ) растянутой мышцы, в ходе которого  $\alpha(\ell)$  линейно возрастает (см. рис. I), получается приближенное уравнение (пренебрегаем малым параметром, равным  $\frac{1}{70}$ ), аналогичное стационарному уравнению Хилла:

$$\left[ P + \frac{K_1}{K_1 + K_2} f \alpha(\ell) \right] v = \frac{K_2}{K_1} \frac{K_1}{K_1 + K_2} [f \alpha(\ell) - P], \quad (22)$$

где  $\alpha(\ell)$  - пропорциональна числу миеозиновых мостиков в зоне перекрытия нитей при укорочении саркомера  $2\ell$ . Приближение к стационарному и квазистационарному режиму сокращения (уравнения (18) и (22) соответственно) может происходить колебательным образом [5, 6]. Параметры нагрузки  $P$  и  $M$  определяют частоту и затухание колебаний. Это предсказание теории недавно было подтверждено экспериментально [22].

При изометрическом сокращении нагрузкой для сократительного аппарата мышечного волокна является упругость последовательных пассивных элементов, так называемая "последовательная упругая компонента", которая может быть измерена экспериментально [15]. Характерной особенностью этой нагрузки является ее безынерционность:  $M_g = 0$ . Благодаря этому уравнение (16) заменяется алгебраическим соотношением, выражающим равенство сил, развиваемых сократительной и упругой компонентами. Расчетная кривая восстановления силы во времени после быстрого укорочения возбужденной мышцы в начальный момент времени (сила при этом падает до 0, хотя замкнутые мостики не успевают разомкнуться:  $n(0) = M(0) = 0,5$ ) совпадает с экспериментальной. Правильная зависимость силы от времени в обычном изометрическом тетанусе (стимуляция начинается при  $t=0$ , при этом  $n=0$  и  $m=0$ ) получается, если учесть, что концентрация  $Ca^{++}$  в сократительной системе увеличивается от 0 до стационарного уровня за несколько миллисекунд [16].

Система уравнений (14) - (17) после незначительной модификации (для случая  $v < 0$ ) позволяет описать автоколебательные режимы сокращения летательных мышц насекомых [21]. Характерной особенностью этих мышц является дальний трехмерный кристаллоподобный порядок в расположении (A) на всех тонких нитях и (M) на всех толстых нитях в половине саркомера [17]. Это приводит к резкой зависимости числа "удобно расположенных" пар (M-A) (способных к замыканию) от длины саркомера. В рабочем диапазоне длин  $\alpha(\ell)$  растет при растяжении мышцы (с уменьшением  $\ell$ ) [18]. Величины констант  $K_1$  и  $K_2$  можно определить из данных по динамике изменения силы при быстром освобождении и растяжении мышцы [19]. С хорошей точностью они совпадают с аналогичными константами для портяняной мышцы лягушки, что свидетельствует о близком сходстве молекулярных механизмов элементарного сократительного акта в различных типах поперечнополосатых мышц.

В режиме вынужденных гармонических колебаний в некотором диапазоне частот, зависящем от соотношения констант  $K_1$  и  $K_2$  и от крутизны зависимости  $\alpha(\ell)$ , работа, совершаемая летательной мышцей за период, сказывается положительной. Механизм можно пояснить следующим образом. При растяжении мышцы  $\alpha(\ell)$  увеличивается. Из-за конечной величины константы  $K_1$  число замкнутых миеозиновых мостиков и сила, развиваемая мышцей, сказываются меньше их равновесного значения, соответ-



ствующего данной длине саркомера. Наоборот, при укорочении (в силу конечной величины константы  $K_1$ ) число замкнутых мостиков и сила оказываются выше их равновесного значения, соответствующего данной длине. Эти два обстоятельства и обуславливают положительную величину работы за период и, следовательно, возможность автоколебаний на данной частоте. Эволюция расчетного "фазового портрета" (зависимость силы от длины при синусоидальном изменении последней) при изменении частоты такая же, как в эксперименте [20]: при оптимальной частоте он имеет эллиптическую форму с положительным направлением обхода, при понижении частоты - вырождается в линию, при повышении - превращается в восьмерку, а затем в эллипс с отрицательным направлением обхода. Средняя мощность за период пропорциональна квадрату амплитуды в области линейной зависимости  $d(\ell)$ , при смещении рабочей точки из середины линейного участка (при изменении средней длины, около которой происходят колебания) мощность падает из-за понижения средней крутизны зависимости  $d(\ell)$ . Модель объясняет также некоторые другие свойства летательных мышц, не имевшие объяснения до последнего времени.

Перечисленные факты свидетельствуют о том, что предложенная теория количественно объясняет сократительные свойства поперечнополосатых мышц и позволяет рассчитать практически любой динамический режим сокращения. Она не является молекулярной теорией мышечного сокращения, поскольку в настоящее время не могут быть конкретизированы молекулярные процессы, лежащие в основе постулированной здесь схемы элементарного рабочего цикла миозинового мостика. Поэтому математическая модель индифферентна по отношению к огромной совокупности экспериментальных данных о биохимических свойствах сократительных белков.

Постулаты, лежащие в основе теории, накладывают ограничения на возможный молекулярный механизм элементарного сократительного акта. Простота постулатов и уравнений, к которым они приводят, отсутствие экспериментальных данных, противоречащих предложенной схеме, способность теории описывать поведение мышцы в широком диапазоне условий свидетельствуют о том, что она правильно отражает существенные черты механизма мышечного сокращения.

## Л и т е р а т у р а

1. A.F.Huxley, Dr.R.Niedergerke. *Nature*, 1954, 173, 971.
2. H.E.Huxley, J.Hanson. *Nature*, 1954, 173, 973.
3. A.F.Huxley. *Progr. Biophys. and Biophys. Chem.*, 1957, 7, 255.
4. В.И.Дещеревский. *Биофизика*, 1968, 13, 928.
5. V.J.Deshtsherevski. *Biogeology*, 1970.
6. В.И.Дещеревский. ВИНТИ № 818-69 Дел., М., 1969.
7. H.E.Huxley, *J.Mol.Biol.*, 1963, 7, 281.
8. А. Сент-Джорджи. О мышечной деятельности. М., Медгиз, 1947.
9. H.E.Huxley, J.Hanson. *Symp. Soc. Exptl. Biol.*, 1955, 9, 228.
10. H.E.Huxley, W.Brown. *J.Mol.Biol.*, 1967, 30, 383.
11. G.E.Elliot, J.Lowy, C.R.Worthington. *J.Mol.Biol.*, 1963, 6, 295.
12. H.E.Huxley, *Proc. Roy. Soc.*, 1964, B 160, 442.
13. A.M.Gordon, A.F.Huxley, F.I.Julian. *J.Physiol.*, 1966, 184, 170.
14. Х.Хаксли. В кн.: Молекулярная биология, М., ИИЛ, 1963.
15. B.R.Jewell, D.R.Wilkie. *J.Physiol.*, 1958, 143, 515.
16. E.B.Ridgway, C.C.Ashley. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 1967, 29, 229.
17. M.K.Reedy. *J.Mol.Biol.*, 1968, 31, 155.
18. R.A.Chaplain. *Biochim. Biophys. Acta*, 1967, 131, 385.
19. B.R.Jewell, I.C.Ruegg. *Proc. Roy. Soc.*, 1966, B 164, 428.
20. R.T.Tregear. *Current topics in Bioenergetics*, 2, 269, Acad.Press, 1967.
21. В.И.Дещеревский. *Биофизика*, 1970, 15, 53.
22. В.Н.Буравцев, В.И.Дещеревский. *Биофизика*, 1970, 15, 541.