УДК 577.3

© 2008

О. В. Оглобля, Д. М. Ноздренко

Математична модель участі титіну у циклі процесів скорочення скелетних м'язів

(Представлено членом-кореспондентом НАН України В. А. Макарою)

A model describing the titin contribution in skeletal muscle force generation is suggested. Our model assumes that titin aggregates with myosin with some curvature. The main assumption is that the effective length of titin (the length of a part non-aggregated with myosin and left in spiral form) is shortened, and the spiral of titin PEVK domains is unrolled, these quantities being changed proportionally. The formula for a titin contribution in the "force-length" dependence of skeletal muscle is obtained.

З'ясування принципів та механізмів скорочення м'яза є одним з найважливіших завдань біофізики. Всебічне вивчення властивостей поперечносмугастих м'язів дало змогу нагромадити значну кількість експериментальних даних, аналіз яких зумовлює необхідність постійної зміни уявлень про структурні та функціональні аспекти роботи м'язів. Однак, незважаючи на численні дослідження в цій області, на сьогодні немає одностайності у поглядах на молекулярні механізми процесів скорочення м'язів. Основні положення існуючих гіпотез м'язового скорочення не в змозі пояснити цілий ряд нових експериментальних результатів. Так, у сучасних роботах в цій області все частіше з'являються дані, що свідчать про нелінійний характер процесів скорочення м'язових волокон [1, 2]. Такі протиріччя між теорією та практичними даними вимагають появи нових гіпотез стосовно механізмів скорочення поперечносмугастого м'яза, націлених на створення однозначного трактування загального молекулярного механізму скорочення скелетних м'язів.

Класична модель скорочення поперечносмугастих м'язів пояснює механізм руху міозинового філамента тим, що ділянка між головкою та основною частиною міозину "веслує", змінюючи кут при конформаційних перетвореннях, які відбуваються за рахунок енергії гідролізу АТФ. Тобто просування на один крок відбувається під час одного циклу гідролізу АТФ, при цьому величина зсуву ~ 6 нм. Використовуючи нову техніку для оперування одиничним актиновим філаментом, К. Кітамура з співавторами [3, 4] провели точні і надійні виміри величини зсуву одиничного міозинового філамента вздовж актинового. Виміряне зміщення становило 10–30 нм, це свідчить про те, що в одному циклі гідролізу АТФ голівки міозину взаємодіють багато разів з актиновим філаментом. Більшість авторів пояснюють цей процес броунівським механізмом [5]: величина кроку є випадково розподіленою з гауссовим розподілом, зсунутим у бік напряму просування на величину, яка визначається інтенсивністю гідролізу АТФ. Інші автори відзначають значну роль у генерації сили титіну [6, 7].

Основними білками саркомера є міозин, актин і титін. На відміну від міозинових й актинових ниток, нитки титіну тягнуться від M-лінії до Z-диску. Ця третя система білків — ниток має свої оригінальні та мало досліджені властивості і тому, щоб створити більш точні моделі елементів саркомера, необхідно з розрізнених, а іноді й суперечливих, даних по титіну відібрати достатній набір геометричних параметрів, на основі яких можна аналізувати

моделі, запропоновані іншими авторами, і пропонувати свої моделі. З розтягом неактивного саркомера нитки титіну, особливо та їх частина, яка знаходиться в I-смузі, ведуть себе як пружини. Але при розтягуванні пружини величина зусилля має лінійну залежність від довжини. А в нитках титіну це зусилля зростає майже по експоненті. Більш точні експерименти, крім цієї нелінійності, довели наявність пилкоподібних викидів на графіку залежності, природа яких теж не зрозуміла. Вважається, що функція ниток титіну — стабілізувати положення товстої нитки в саркомері і якоюсь мірою брати участь у генерації сили.

Титін має намистоподібну структуру: між спіральними ділянками PEVK-доменів знаходяться імуноглобулінові (Ig) домени [8]. Пружні властивості титіну нещодавно були експериментально досліджені за допомогою лазерно-пінцетного методу [9] і потребують розробки теорії для їх кількісного опису.

Джон Трінік з співавторами [6, 7] показав, що мінімальна кількість ниток титіну повинна дорівнювати 12 на половину саркомера. Біля Z-диску кожна нитка актину зв'язана з двома нитками титіну. З точки зору симетрії, кількість ниток титіну на половину товстої нитки повинна бути кратна трьом, а для тонкої нитки — двом. Мінімальна кількість ниток титіну, яка задовольняє ці умови — 12, обов'язково по дві нитки титіну на одну тонку нитку.

Мета нашого дослідження — на основі аналізу сучасних даних по титіну запропонувати таку біофізичну модель трубки титіну, яка б дозволила пояснити вказану залежність сила — довжина та нормально працювала при максимальному скорочені саркомера, а також конкретизувати, яким чином нитки титіну беруть участь в генерації сили і в стабілізації положення товстої нитки.

Результати та їх обговорення. Довжина молекули міозину при скороченні зменшується, що підтверджують мікроскопічні дослідження [9]. Це, на нашу думку, обумовлено деяким закручуванням молекули міозину під час „биття" голівок міозину по нитках актину. Міозин, в свою чергу, розкручує титін — білок, що складається з послідовного повторення Ig-подібного та спірального PEVK-доменів [8]. Титін, з одного боку, зв'язаний з Z-диском, а з іншого — з міозиновим філаментом. Про цей білок не вщухають суперечки, але деякі дослідники [7] відзначають його значну роль у генерації сили в скелетному м'язі. При м'язовому скороченні міозин досить незначно змінює свої розміри. Цією зміною знехтуємо, тоді довжина м'яза визначається насамперед відстанню від міозину до Z-диску, тобто довжиною титіну.

Припустимо, що, крім взаємодії актину з міозином, частина зусилля створюється титіном. Також припустимо, що PEVK-домени з кінця, який кріпиться до міозину, під час скорочення втрачають свою спіральну структуру, а з нею і здатність легко розтягуватись, або, іншими словами, зв'язаний з міозином кінець титіну внаслідок реакцій, супутніх до гідролізу АТФ, набуває зв'язаної конформації (не спіральної, а насамперед глобулярної), що приводить до зменшення довжини титіну в спіральній конформації (сумарної довжини PEVK-доменів). Крім того, за рахунок незначного закручування (майже без зміни довжини) міозину, спіраль PEVK-доменів титіну розкручується. Цей процес (який надалі будемо називати агрегацією титіну) змінює крок спіралі і, як наслідок, кут ковалентного зв'язку в точках кріплення до Z-диску. Здається логічним вважати, що характер міжатомної взаємодії титіну в точці закріплення до Z-диску не містить кутової жорсткості, тобто момент сили, який намагався б повернути Z-диск, незначний. Тоді поздовжня сила, яка діє на диск з боку титіну, задається кутом нахилу та станом розтягу ланки атомів титіну. Надалі під ефективною довжиною титіну будемо розуміти сумарну довжину PEVK-доменів титіну.

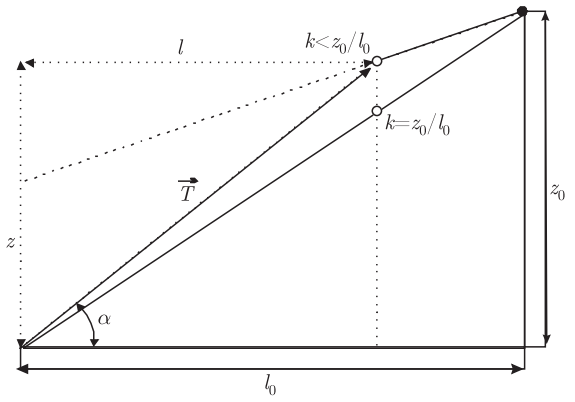

Рис. 1. Модель розкрученої нитки титіну

На рис. 1 наведено розкручену нитку титіну (без Ig послідовностей), яка, очевидно, із спіралі стає прямою лінією. Нехай у видовженому стані м'яза спіраль титіну знаходиться в ненапруженому стані, має довжину l_0 і закручена на $z_0/(2\pi R)$ витків (R — радіус спіралі, в яку укладений титін). Для нашої моделі не потрібне точне значення R — достатньо знати лише z_0. Повну довжину нитки титіну в ненапруженому стані позначимо $L_0 = \sqrt{(l_0)^2 + (z_0)^2}$. Будемо вважати, що при скороченні правий кінець титіну в спіральній формі рухається по спіралі, геометрія якої продиктована скрученням міозину, тобто зв'язується з міозином, закручуючись в спіраль з іншими параметрами, ніж титін у нерозтягнутому стані. Цьому процесу відповідає рух правого кінця відрізку (незабарвленого кола) по прямій, назвемо це агрегацією з філаментом міозину. Поздовжню довжину вільної частини титіну позначимо через l, а довжину, що пішла на скручування — z (це координати незабарвленого кола на рис. 1). Тоді повна довжина нитки титіну в спіральній формі (тобто довжина тієї частини титіну, що не агрегувала з міозином) буде $L = \sqrt{l^2 + z^2}$. Будемо вважати, що процес агрегації з міозином у розгортці відбувається по прямій з кутовим коефіцієнтом k. У випадку, коли $k < z_0/l_0$, поздовжнє просування буде швидшим за обертове, що приведе до розтягу нитки титіну в спіральній формі та генеруванню сили. Позначимо силу натягу нитки титіну через T. У припущенні лінійного закону пружності: $T = K\Delta L$, де K — коефіцієнт пружності, ΔL — різниця в довжині титіну укладеного в спіралі з двома різними кроками (верхня лінія) та в не розтягнутому вигляді (нижня лінія). Очевидно, $\Delta L = L + \sqrt{(z_0 - z)^2 + (l_0 - l)^2} - L_0$. Сила натягу діє під кутом α, очевидно, що її горизонтальна (уздовж філамента) проекція буде такою:

$$F = T\cos(\alpha) = K\Delta L\frac{l}{L} = Kl\left(1 + \frac{\sqrt{(z_0 - z)^2 + (l_0 - l)^2} - L_0}{L}\right). \tag{1}$$

Щоб отримати залежність сили F від довжини титіну l, в цю формулу підставимо вирази $L_0 = \sqrt{(l_0)^2 + (z_0)^2}$ і $L = \sqrt{l^2 + z^2}$, а також виразимо z через l. Як ми вже відзначали, правий кінець титіну (тобто той титін, який ще в спіральній формі) рухається по прямій з кутовим коефіцієнтом k, тому

$$z = z_0 - k(l_0 - l). \tag{2}$$

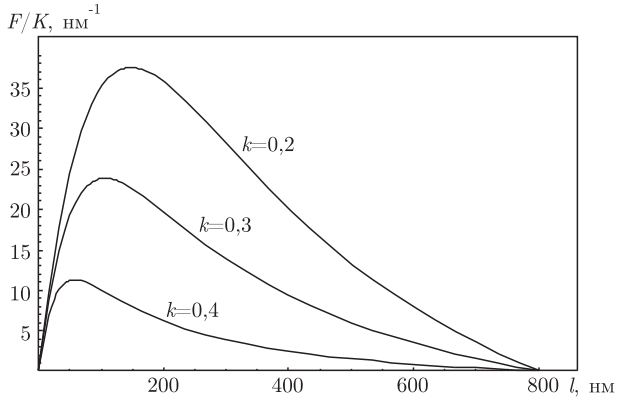

Рис. 2. Залежність сила — довжина для різних значень ($k = 0{,}2$, $k = 0{,}3$, $k = 0{,}4$; $l_0 = 800$ нм, $z_0 = 400$ нм) параметра

З наведених формул знаходимо залежність сили від довжини титіну:

$$F(l) = Kl\left(1 + \frac{(l_0 - l)\sqrt{k^2+1} - \sqrt{(l_0)^2 + (z_0)^2}}{\sqrt{l^2 + (z_0 - k(l_0 - l))^2}}\right). \tag{3}$$

Візьмемо такі значення параметрів моделі: $l_0 = 800$ нм (з підгонки до мікроскопічних даних про довжину філамента [3]). Параметр z_0 можна розрахувати, знаючи радіус спіралі титіну R та кількість витків ν: $z_0 = \nu 2\pi R$. Для розрахунків використаємо $z_0 = 400$ нм. Оскільки особливості агрегації титіну з міозином невідомі, на рис. 2 побудовано, згідно з формулою (3), залежність сила — довжина для різних значень параметра $k < 0{,}5$.

Отриманій залежності властиві всі характерні риси залежності сила — довжина для цілого м'язового волокна, але оскільки залежність (3) одержано для титіну, що є лише складовою частиною м'яза, таке порівняння чисельно проводити майже не можливо.

Експериментальні результати [1, 2, 10–12] свідчать про необхідність нових досліджень для адекватного описання всіх аспектів загального механізму скорочення. Згідно з отриманими даними, ми припустили, що необхідно враховувати внесок титіну у розвиток сили саркомером і здатність агрегувати з міозином, який під час цього процесу дещо закручується. Основним припущенням було те, що ефективна довжина титіну (довжина тої частини титіну, яка не агрегувала з міозином і залишилась у спіральній конформації, тобто сумарна довжина PEVK-доменів) зменшується, спіраль PEVK-доменів титіну розкручується, причому ці величини змінюються пропорційно. Загальноприйняті на сьогодні моделі м'язового скорочення не відбивають всіх аспектів реального механізму скорочення скелетного м'яза. Тому запропонована нами математична модель участі титіну в циклі процесів скорочення скелетних м'язів може бути корисною для створення моделі скорочення скелетного м'яза, яка б адекватно описувала сучасні експериментальні дані.

1. *Мирошниченко М. С., Ноздренко Д. М., Залоило И. А.* Динамика сокращения изолированного мышечного волокна лягушки при высокочастотной модулированной стимуляции // Фізика живого. – 2002. – **10**, № 1. – С. 41–48.
2. *Kostyukov A. I., Cherkassky V. L.* Movement-dependent after-effects in the firing of the spindle endings from de-efferented muscles of the cat hindlimb // Neuroscience. – 1992. – **46**. – P. 989–999.
3. *Kitamura* K., Tokunaga M., Iwane A. H. at al. A single myosin head moves along an actin filament with regular steps of 5.3 nanometres // Nature. – 1999. – **397**. – P. 129–134.

4. *Kitamura K., Yanagida T.* Stochastic properties of actomyosin motor // Biosystems. – 2003. – **71**. – P. 101–110.
5. *Tanaka H., Homma K., Iwane A. H. et al.* The motor domain determines the large step of myosin-V // Nature. – 2002. – **415**. – P. 192–195.
6. *Trinick J., Knight P., Whiting A.* Purification and properties of native titin // J. Mol. Biol. – 1984. – **180**. – P. 331–356.
7. *Liversage A., Holmes D., Knight P. et al.* Titin and sarcomere symmetry paradox // J. Mol. Biol. – 2001. – **305**. – P. 401–409.
8. *Nagy A. et al.* Hierarchical extensibility in the PEVK domain in skeletal muscle titin // Biophys. J. – 2005. – **89**. – P. 329–336.
9. *Leake M. C., Wilson D., Gautel M. et al.* The elasticity of single titin molecules using a two-bead optical tweezers assay // Ibid. – 2004. – **87**. – P. 1112–1135.
10. *Ноздренко Д. М., Богуцкая К. И.* О молекулярных механизмах сокращения мышечного волокна при переходе к новому равновесному состоянию: анализ экспериментальных данных с использованием трехкомпонентного электростимулирующего сигнала // Биополимеры и клетка. – 2005. – **21**, № 3. – С. 283–286.
11. *Kostyukov A. I., Korchak O. E.* Length changes of the cat soleus muscle under frequency-modulated dustributer stimulation of efferents in isotoni // Neuroscience. – 1998. – **82**. – P. 943–955.
12. *Мірошниченко М. С., Залоїло І. А., Прилуцький Ю. І.* Моделювання залежностей сила – довжина саркомера та швидкість – сила скорочення скелетного м'язу // Сучасні проблеми біофізики / Під ред. В. М. Казакова та М. Ф. Шуби. – Донецьк: Лебідь, 2001. – С. 25–34.

Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 18.06.2007