

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА**

МІЩЕНКО Артем Михайлович

УДК 577.353.2:577.353.3:577.353.5

**МОДЕЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ПРОСТОРОВОЇ СТРУКТУРИ
САРКОМЕРУ В МОЛЕКУЛЯРНОМУ МЕХАНІЗМІ М'ЯЗОВОГО
СКОРОЧЕННЯ**

03.00.02 – біофізика

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Львів – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі біофізики біологічного факультету Донецького національного університету імені Василя Стуса.

Науковий керівник: кандидат хімічних наук, доцент
Доценко Ольга Іванівна
Донецький національний університет імені Василя Стуса,
завідувач кафедри біофізики

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, старший науковий співробітник
Нурищенко Наталія Євгенівна
Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
доцент кафедри біофізики та медичної інформатики

кандидат біологічних наук, доцент
Мотузюк Олександр Петрович
Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки
доцент кафедри фізіології людини і тварин

Захист відбудеться «____» _____ 2019 року о ____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 35.051.14 Львівського національного університету імені Івана Франка за адресою: 79005, м. Львів, вул. Грушевського, 4, біологічний факультет, ауд. № 333.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Львівського національного університету імені Івана Франка за адресою: 79005, м. Львів, вул. Драгоманова, 17.

Автореферат розісланий «____» _____ 2019 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради К 35.051.14
кандидат біологічних наук, доцент

М. В. Бура

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Вивчення молекулярного механізму м'язового скорочення є однією з фундаментальних проблем біофізики. Труднощі в розумінні молекулярного механізму, в першу чергу, пов'язані з його емерджентним характером. Механохімічні властивості молекул міозину є важливим, але не єдиним чинником, що визначає спостережувані властивості м'язового волокна. Молекули міозину та актину є частиною складної тривимірної квазікристалічної структури саркомеру. Просторова неоднорідність відстаней між молекулами міозину та актину впливає на характер їх взаємодії. Механічна сполученість поперечних містків створює кооперативні ефекти в роботі їх сукупності. Дотепер залишається багато нерозв'язаних питань стосовно ролі структури саркомеру в біофізичному механізмі роботи м'язу. Експериментальним шляхом складно досліджувати колективну роботу множини міозинових моторів в нативній структурі саркомеру. Перспективним рішенням описаної проблеми є комп'ютерне моделювання, яке використовує різноманітну інформацію щодо властивостей окремих компонент саркомеру. У зв'язку з появою потужних комп'ютерів широке розповсюдження отримали просторово розподілені стохастичні імітаційні моделі (Daniel, Trimble et al. 1998, Campbell 2006, Tanner, Daniel et al. 2007). Моделі такого типу зберігають інформацію про особливості геометрії ґратки саркомеру, дозволяють явним чином врахувати еластичність скорочувальних філаментів.

В 90-х роках минулого сторіччя було зроблене відкриття наявності еластичності скорочувальних філаментів. Експериментальні та теоретичні дослідження показують наявність впливу еластичності скорочувальних філаментів на фізіологічні функції м'язових волокон (Luo, Cooke et al. 1993, Daniel, Trimble et al. 1998, Henkin, Maughan et al. 2004, Palmer, McConnell et al. 2004, Nao, Miller et al. 2006, Miller, Lekkas et al. 2008, Linari, Piazzesi et al. 2009). Також цей факт істотно змінив методику інтерпретації механічних експериментів (Piazzesi, Reconditi et al. 2007, Linari, Piazzesi et al. 2009). Правильна інтерпретація результатів експерименту потребує розуміння механізму впливу еластичності філаментів на спостережувані властивості. В теоретичній роботі (Daniel, Trimble et al. 1998) було показано, що такий вплив може бути опосередкований наявністю локальних деформацій просторової структури ґратки філаментів. Але отримані Daniel, Trimble et al. 1998 залежності констант швидкостей механохімічного циклу поперечних містків від деформації не дозволяють достатньо точно відтворити експериментальні закономірності механіки розтягування м'язового волокна.

Вважається, що колективні ефекти в роботі поперечних містків можуть лежати в основі осциляторної або східчастої динаміки скорочення, яку спостерігають експериментально (Edman and Curtin 2001; Pollack, Blyakhman et al. 2005). Припускається, що така динаміка може бути пов'язана зі структурними обмеженнями, що накладає ґратка філаментів на взаємодію між міозином та актином. Осциляторний режим роботи було отримано в ряді теоретичних робіт, які використовували дискретну ґратку (Duke 1999, Vilfan and Duke 2003, Smith and Mijailovich 2008). В цих роботах показано, що така механіка може бути пов'язана з кооперативними ефектами, які виникають в роботі сукупності поперечних містків. Серед недоліків згаданих робіт можна зазначити: по-перше, відсутність аналізу

можливої ролі дискретності ґратки філаментів як фактору, що модулює актоміозинові взаємодії в механізмі синхронізації роботи поперечних містків; по-друге, відсутність кількісного збігу величин сходинок з експериментальними значеннями, а також відсутність кількісного пояснення зв'язку між параметрами східчастого руху та геометричними параметрами ґратки саркомеру; по-третє, відсутність механізму утворення сходинок, величина яких є в декілька разів більшою, ніж величина елементарної сходинки.

Важливим експериментальним методом, що дозволяє в нативних умовах отримати інформацію про певні аспекти функціонування м'язу на молекулярному рівні є дослідження його в'язкопружних властивостей. Корисність цього методу залежить від правильності інтерпретації результатів. В літературі точаться дискусії стосовно молекулярної природи параметрів в'язкопружних властивостей. Не з'ясовано, з якими етапами механохімічного циклу вони пов'язані, яким чином на молекулярному рівні збурення довжини саркомеру сполучені зі зміни сили, що спостерігається на макроскопічному рівні. В роботах (Kawai and Halvorson 2007) вивчені залежності частотних характеристик активного м'язового волокна від концентрації MgATP, MgADP та Pi. Експоненційні процеси (A), (B) та (C), що формують три фази силового відгуку активного м'язового волокна на східчасті зміни довжини, були співставлені з певними переходами в механохімічному циклі. При цьому інтерпретація спостережуваних закономірностей здійснювалась в рамках зосередженої кінетичної моделі. Без урахування просторової складової така модель не дає конкретного механізму змін сили, що виникають при змінах довжини.

Мета і задачі дослідження. Метою даної дисертаційної роботи є з'ясування біофізичних механізмів роботи скорочувального апарату саркомеру в різноманітних режимах його роботи, ролі в цьому механізмі структури саркомеру, еластичності скорочувальних філаментів, механохімічних властивостей окремих поперечних містків та динамічних властивостей їх популяції, з використанням засобів комп'ютерного моделювання. Для досягнення даної мети розв'язувалися такі завдання:

1. Побудова просторово розподіленої стохастичної моделі півсаркомеру з еластичними філаментами нанорівня, яка здатна відтворити експериментально спостережувану механіку розтягування м'язового волокна.
2. У рамках стохастичної моделі дослідження біофізичного механізму впливу еластичності скорочувальних філаментів та пов'язаних з її наявністю локальних деформацій структури саркомеру на роботу півсаркомеру в стаціонарних та нестаціонарних режимах роботи.
3. Отримання стрибкоподібної динаміки змін довжини саркомеру в ізотонічних умовах, дослідження ролі дискретності ґратки філаментів в формуванні кооперативних ефектів в роботі поперечних містків в рамках стохастичної моделі.
4. Розробка детерміністичної апроксимації стохастичної просторово-розподіленої моделі для випадку великої кількості поперечних містків. У рамках детерміністичної моделі здійснення симуляції стрибкоподібної динаміки змін довжини саркомеру в ізотонічних умовах при різних параметрах моделі.
5. Побудова просторово розподіленої детерміністичної моделі з використанням методів багатомірної оптимізації для відтворення експериментальних

в'язкопружних властивостей активного м'язового волокна кролика. У рамках отриманих моделей дослідження природи в'язкопружних властивостей та необхідності просторової складової в механізмі їх реалізації.

Об'єкт дослідження: біофізичні механізми механічних закономірностей роботи м'язового волокна, саркомеру. Просторово розподілені моделі півсаркомеру.

Предмет досліджень: Просторова структура саркомеру, еластичність скорочувальних філаментів, їх вплив на циклічну роботу поперечних містків, формування кооперативних ефектів. Природа в'язко пружних властивостей активного м'язового волокна, його осциляторної роботи. Детерміністична апроксимація стохастичної просторово розподіленої моделі.

Методи дослідження. При дослідженні біофізичних механізмів механіки м'язового скорочення: імітаційні та кінетичні просторово розподілені моделі півсаркомеру. При побудові моделей та їх програмній реалізації, обробці результатів симуляції: методи теорії автоматичного керування, методи цифрової обробки сигналів, методи чисельного моделювання, методи нелінійної оптимізації, методи лінійної алгебри, методи математичної статистики. Програмний код моделей був реалізований мовами C++, а також MATLAB/GNU Octave.

Наукова новизна одержаних результатів. Створена просторово розподілена стохастична модель півсаркомеру з еластичними скорочувальними філаментами, яка дозволяє відтворити експериментально спостережувану механіку розтягування м'язового волокна. Вперше проаналізовано вплив еластичності скорочувальних філаментів на швидкість ковзання в ізотонічному режимі, на генерацію сили при ізокінетичному розтягуванні. Показано, що вплив еластичності філаментів на механіку роботи півсаркомеру опосередковується змінами просторової структури дискретної ґратки філаментів, які призводять до змін кінетики циклічних взаємодій міозину та актину, впливають на кооперативні ефекти, а також механіку ковзання півсаркомеру під дією сил, що генерують поперечні містки.

Вперше розроблена детерміністична чисельна процедура, що апроксимує рішення стохастичної просторово-розподіленої моделі півсаркомеру з дискретним розташуванням поперечних містків та зв'язувальних центрів в ґратці філаментів.

З використанням вейвлет аналізу розроблена процедура автоматичної детекції сходинок в стохастичній траєкторії ковзання, кількісно співставленні явища східчастого ковзання в моделі та експерименті.

Вперше детально проаналізована важливість дискретності ґратки філаментів як одного з факторів формування колективних ефектів в роботі поперечних містків. Вперше кількісно показаний зв'язок параметрів стрибкоподібного руху з параметрами ґратки півсаркомеру, а саме, періодичністю розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів на товстих та тонких філаментах відповідно. Проаналізований механізм формування сходинок, в декілька разів більших за елементарну.

Вперше зроблена інтерпретація походження експоненційних процесів (A), (B) і (C) та їх параметрів (або трьох арок годографа Найквіста та їх параметрів) в термінах просторово-часової динаміки країв розподілів зв'язаних поперечних містків. Показано, що динаміка експоненційних процесів пов'язана з динамікою відновлення крайових ділянок розподілів зв'язаних поперечних містків, збурених

змiнами довжини. Встановлена відповідність між статичними та динамічними параметрами експоненційних процесів, просторовими та динамічними параметрами збурених крайових ділянок. Показана важливість просторової складової в реалізації механізму спостережуваних в'язкопружних властивостей та обмеження редукованих кінетичних моделей реалізувати такий механізм.

Практичне значення одержаних результатів. Розуміння зв'язку між змiнами механохімічних властивостей окремих компонент саркомеру та механічними закономірностями його роботи, кількісна *in silico* оцінка залежності є важливими з точки зору інтерпретації та аналізу експериментальних даних, розуміння природи хвороб, пов'язаних з м'язами. Створені в роботі моделі можуть бути використані для кількісного відокремлення вкладу різних складових саркомеру в спостережувані закономірності роботи м'язового волокна. Розроблена процедура для автоматичної детекції сходинки в траєкторії ковзання півсаркомеру може бути використана при аналізі реальних експериментальних даних. Розроблений підхід для створення детерміністичних просторово розподілених моделей півсаркомеру може бути використаний як більш швидкодійна альтернатива до стохастичних просторово розподілених моделей, що використовують метод Монте-Карло в якості чисельної апроксимації безперервних моделей, заснованих на диференційних рівняннях в частинних похідних (ДРЧП). Зроблені узагальнення стосовно біофізичного механізму в'язкопружних властивостей активного м'язового волокна, ролі просторової складової в цьому механізмі можуть бути використані для подальшого вивчення цього явища, зокрема, можуть розглядатись як обмеження, що мають бути враховані при створенні спрощених моделей.

Особистий внесок здобувача. Автор дисертації зробив основний внесок у всі стадії роботи, включаючи: постановку задач дослідження, розробку та програмну реалізацію моделей, проведення комп'ютерних симуляцій, аналіз та інтерпретацію їх результатів, підготовку статей. Спільно з науковим керівником проведено планування основних напрямків досліджень, вибрано методи та обговорено одержані результати.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи були представлені та доповідались на: міжнародній науковій конференції «Проблеми Біологічної і Медичної Фізики» (Харків, 2004), міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів Молодь і поступ біології: Матеріали (Львів, 2008), International Conference «NANOBIOPHYSICS: fundamental and applied aspects» (Харків, 2009), V з'їзді українського біофізичного товариства (Луцьк, 2011), XIII міжнародній конференції по прикладній біофізиці, біоніці та біокібернетиці (Київ, 2018 р.), 2nd International Conference on Biomedical Sciences "Smart Bio" (Lithuania, Kaunas, 2018)

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць, що включають 5 статей, з яких 4 у фахових виданнях, 1 належить до наукометричної бази даних "Scopus", та 6 публікацій за матеріалами і тезами у збірниках вітчизняних і закордонних з'їздів та конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, семи основних розділів, висновків, списку використаних джерел та трьох додатків. Загальний обсяг дисертації складає 222 сторінок. Додатки займають 25 сторінок.

Дисертація містить 72 рисунків, 21 таблиць. Список використаних джерел (найменувань) займає 18 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1 присвячений аналізу літературних даних за темою дослідження. Розглядаються експериментальні відомості про величину жорсткості скорочувальних філаментів; теоретичні та експериментальні відомості про фізіологічне значення жорсткості скорочувальних філаментів. Наводяться основні експериментальні відомості про механіку ізокінетичного розтягування м'яза. Відомості про просторову структуру ґратки саркомеру, існуючі уявлення про взаємозв'язок між структурою та функцією. Описані відомі експериментальні факти про механіку стрибкоподібного ковзання, наявні уявлення про механізм цього явища. Розглядаються основні експериментальні відомості про перехідні та частотні характеристики активного м'язового волокна, їх фізіологічне значення, наявні уявлення про їх природу.

Розділ 2. Описані чисельні та математичні методи, що використовувались для побудови моделей, їх чисельної реалізації, симуляції, в рамках цих моделей, різноманітних експериментальних режимів роботи м'язу, обробки результатів симуляції. Програмно моделі були реалізовані мовою C++ або додатково мовою пакетів MathWorks MATLAB/GNU Octave. Для прискорення розрахунків в рамках стохастичної моделі обчислення розпаралелювалися. Для реалізації розподілених обчислень використовувався інтерфейс передачі повідомлень MPI (MPICH2 v1.3). Обробка результатів здійснювалась з використанням скриптів, що були написані мовою пакетів MATLAB, R, Perl, Python.

Розділ 3. В цьому розділі описується просторово розподілена стохастична модель півсаркомеру з еластичними скорочувальними філаментами, яка була побудована в рамках підходу, запропонованого в роботі (Daniel, Trimble et al. 1998). В моделі розглядається взаємодія одного ряду поперечних містків на товстому філаменті з одним, найближчим до нього, рядом зв'язувальних центрів на актині, рис. 1. Кожен з філаментів представлений у вигляді намистинки, з'єднаних пружинками. На намистинках знаходяться поперечні містки та зв'язувальні центри. Відстань спокою між сусідніми намистинками складає l_{mn} та l_{an} на міозині та актині відповідно. Пружинки, що зв'язують сусідні намистинки на міозині й актині, мають жорсткість k_{mn} та k_{an} відповідно. Перша намистинка на міозині прикріплена пружинкою із жорсткістю k_{mn} до нерухої М-лінії. Остання намистинка актину

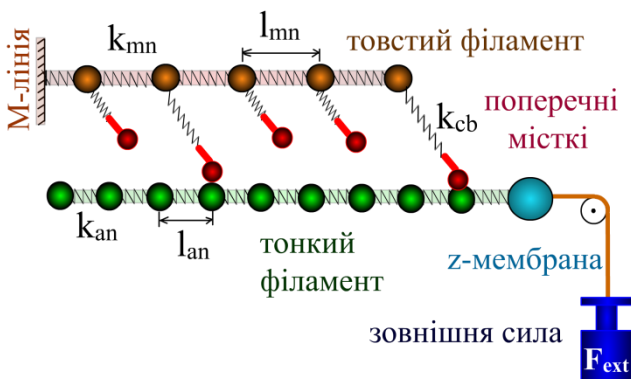
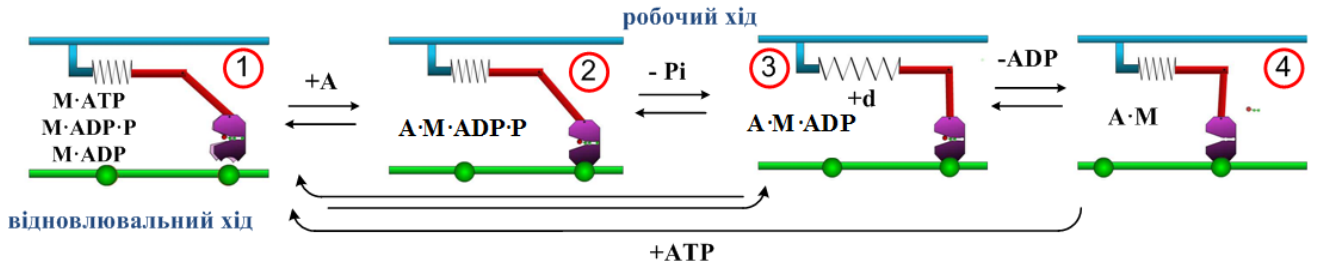


Рис. 1. Механічна модель півсаркомеру

прикріплена пружинкою із жорсткістю k_{an} до Z-мембрани, що здатна рухатись, та на яку може діяти зовнішня сила F_{ext} . Всього налічується N поперечних містків та M зв'язувальних центрів.

Механохімічний цикл поперечного містка включає чотири стадії, рис. 2. Частиною поперечного містка є так званий еластичний елемент (рис. 1). В моделі він є лінійною пружинкою с жорсткістю k_{cb} .

Зв'язаний поперечний місток в k -му хімічному стані створює силу $k_{cb}\varepsilon^{(k)}$, де $\varepsilon^{(k)}$ – деформація його еластичного елемента. Деформація еластичного елемента i -го містка залежить від відстані Δ_{ij} від цього містка до j -го зв'язувального центру. Кінетична частина нашої моделі була побудована на основі моделі з роботи (Getz,



(ефективно поєднує три стани: M·ATP, M·ADP·P, M·ADP). Стан 2 – слабо зв'язаний (A·M·ADP·P), в цьому стані поперечний місток зв'язаний з актином, але не генерує активної сили. Два сильно зв'язаних стани – 3,4 (A·M·ADP, A·M). Перехід 2 → 3 зі слабо зв'язаного стану в сильно зв'язаний супроводжується здійсненням робочого ходу величиною d . На схемі використані наступні позначення: M – міозин, A – актин, P – неорганічний фосфат

Cooke et al. 1998), що дозволило більш адекватно відтворити закономірності механіки розтягування м'язового волокна.

Інші параметри, що використовувались в розрахунках, наведено у таблиці 1.1. Жорсткість скорочувальних філаментів та поперечних містків обиралася аналогічно (Daniel, Trimble et al. 1998). Крок поперечного містка обирався таким, як у роботі (Getz, Cooke et al. 1998).

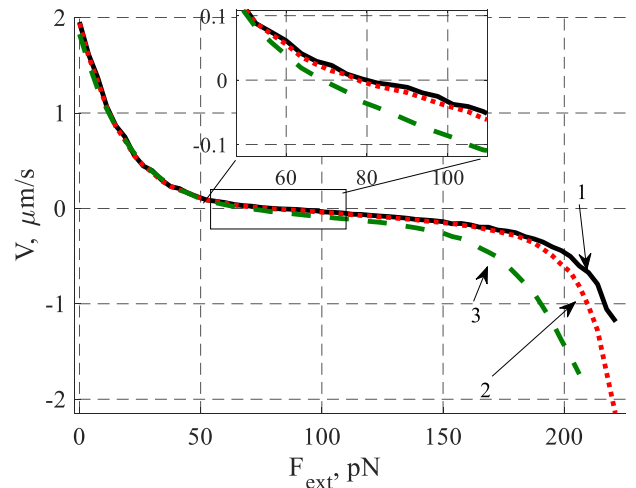
Таблиця 1.1

Параметри моделі

Величина	Значення	Величина	Значення	Величина	Значення	Величина	Значення
N	20	l_{an}	5.5 нм	k_{cb}	7,455 пн/нм	d	4 нм
M	150	L_{an}	0.825 мкм	k_{mn}	6060 пн/нм		
l_{mn}	14.3 нм	L_{mn}	0.272 мкм	k_{an}	11818 пн/нм		

У розділі 4. В рамках сформульованої в розділі 3 стохастичної моделі аналізувався вплив еластичності скорочувальних філаментів та локальних деформацій їх структури на роботу півсаркомеру в стаціонарному (ізотонічний) та нестаціонарних (ізометричний та ізокінетичний) режимах. В симуляціях механічних експериментів використовувались півсаркомери з абсолютно жорсткими філаментами, філаментами з жорсткістю k_{an} та k_{mn} (таблиця 1.1), а також в 10 та в

Рис. 3. Залежність сила-швидкість для півсаркомеру з жорсткими та еластичними скорочувальними філаментами: крива 1 – абсолютно жорсткі філаменти, 2 – жорсткість філаментів k_{an}, k_{mn} ; 3 – жорсткість філаментів $k_{an}/10, k_{mn}/10$. Кожне значення швидкості, при даному зовнішньому навантаженні, знаходилось як середнє 120 випадкових реалізацій. На графіку $V > 0$ відповідає скороченню, а $V < 0$ розтягуванню півсаркомеру.

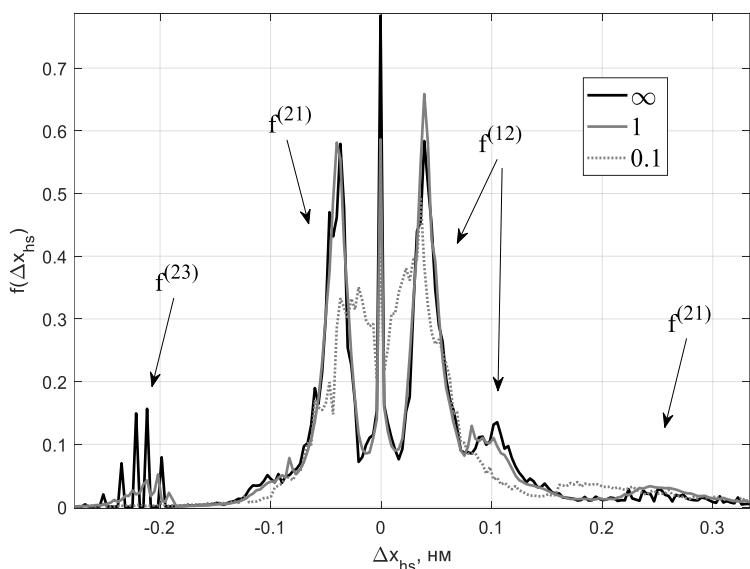


100 раз більш еластичніші (відповідно $k_{an}/10, k_{mn}/10$ та $k_{an}/100, k_{mn}/100$).

Ізотонічне скорочення. В чисельному експерименті були отримані концентрична та ексцентрична частини кривої сила-швидкість для півсаркомеру з абсолютно жорсткими та еластичними філаментами, рис. 3. Параметри, що визначають форму гіпербол концентричної та ексцентричної частин, знаходились в межах існуючих експериментальних значень. Наявність еластичності філаментів зменшувало ізометричну силу та збільшувало швидкість розтягування при однаковому навантаженні. Такі зміни швидкості ковзання опосередковані наявністю локальних деформацій структури еластичних філаментів. Міняючи структуру ґратки філаментів та взаємне розташування поперечних містків і зв'язувальних центрів, вони можуть впливати на кінетику їх взаємодій. Найбільш помітні деформації виникають в ізометричному режимі та при розтягуванні (при ізометричному навантаженні та в вдвічі більшому, для філаментів з жорсткістю k_{an}, k_{mn} деформації досягали $\sim 0.05\%$ та $\sim 0.2\%$ відповідно, при жорсткості $k_{an}/10, k_{mn}/10$ – деформації збільшувались приблизно на порядок). Локальні деформації міняли швидкість механохімічних переходів поперечних містків, заселеності зв'язаних станів.

Для того аби більш детально зрозуміти причини впливу еластичності та локальних деформацій скорочувальних філаментів, були проаналізовані відмінності траєкторій ковзання в півсаркомерах з різною еластичністю філаментів, причини цих відмінностей. Ковзання півсаркомеру виникають після механохімічних переходів окремих поперечних містків. Якщо зневажити силою інерції та тертя в ізотонічному режимі, ковзання актину відбуваються миттєвими стрибками випадкової величини Δx_{hs} , фактично траєкторія переміщень актину має східчастий характер. Середня швидкість ковзання залежить від середньої кількості стрибків на одиницю часу, їх величини та напрямку. На рис. 4 показані розподіли $f(\Delta x_{hs})$ величини Δx_{hs} , при розтягуванні півсаркомеру. Збільшення швидкості розтягування в півсаркомерах з еластичними філаментами обумовлене збільшенням середнього $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ для їх розподілів $f(\Delta x_{hs})$, рис. 4. Таке збільшення $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ є результатом зменшення кількості і величини негативних кроків (в області $\Delta x_{hs} \in (-0.25; -0.15)$ при k_{an}, k_{mn}) та збільшення кількості

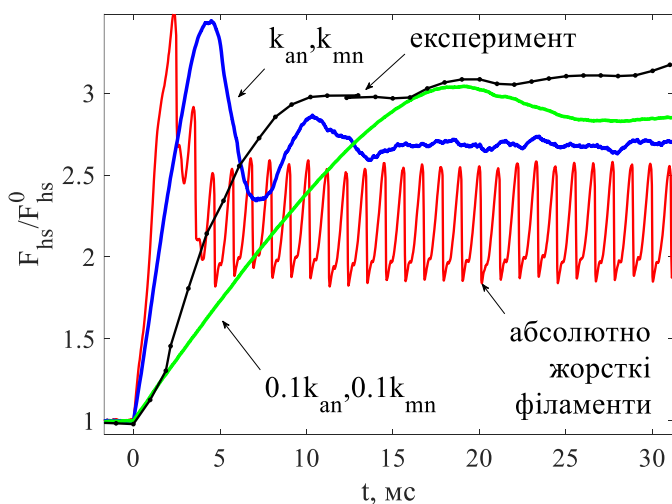
Рис. 4. Емпіричні розподіли $f(\Delta x_{hs})$ миттєвих зсувів Z-мембрани після будь-якого хімічного переходу при $F_{ext}=210$ пН. Криві, позначені в легенді як ∞ - півсаркомер з абсолютно жорсткими філаментами; 1 - жорсткість філаментів k_{an}, k_{mn} ; 0.1 – жорсткість філаментів, $k_{an}/10, k_{mn}/10$. Біля різних частин розподілу вказані хімічні переходи ($i \rightarrow j$), після яких переважно і виникають данні зсуви Δx_{hs} . Значення $\Delta x_{hs} < 0$ відповідають скороченню півсаркомеру, $\Delta x_{hs} > 0$ розтягуванню



позитивних (в області $\Delta x_{hs} \in (0.2; 3)$) при k_{an}, k_{mn}). Показано, що кроки півсаркомеру, які лежать в діапазонах $\Delta x_{hs} \in (-0.25; -0.15)$ та $\Delta x_{hs} \in (0.2; 3)$, виникають головним чином після переходів $2 \rightarrow 3$ (робочий хід) та $2 \rightarrow 1$ (відриви слабозв'язаних містків) відповідно.

Спостережувані зміни $f(\Delta x_{hs})$ і відповідної циклічної роботи поперечних містків можуть бути обумовлені двома причинами: змінами деформацій поперечних містків (внаслідок наявності локальних деформацій філаментів) і частоти відповідних хімічних переходів та змінами механічної реакції системи в цілому на такі переходи (виконання переходу $k \rightarrow m$ містком, що має деформацію $\varepsilon^{(k)}$, в півсаркомері з еластичними філаментами в середньому можуть викликати іншу величину його ковзання Δx_{hs}). Були отримані статистичні залежності миттєвих ковзань півсаркомеру $\Delta x_{hs}^{(km)}(\varepsilon^{(k)})$ від деформації $\varepsilon^{(k)}$ поперечного містка перед виконанням ним переходу $k \rightarrow m$, а також розподіли величини $\varepsilon^{(k)}$ за час експерименту. Встановлено, що зміна ковзання півсаркомеру з еластичними філаментами після переходів $2 \rightarrow 3$ та $2 \rightarrow 1$ головним чином обумовлена зміною частоти цих переходів. Переходи $2 \rightarrow 3$ та $2 \rightarrow 1$ трапляються рідше та частіше відповідно (кількість скорочень стає меншою, розтягувань більшою). Додатковим фактором є зміна механічної реакції півсаркомеру на виконання поперечними містками робочого ходу ($2 \rightarrow 3$). В півсаркомері з еластичними філаментами робочий хід містка в середньому викликає меншу величину скорочення, частина його роботи іде на деформацію ґратки філаментів; зі збільшенням еластичності філаментів цей ефект збільшується. Це призводить до зменшення величини негативних сходинок.

Ізометричне скорочення та ізокінетичне розтягування півсаркомеру. В результаті симуляції ізокінетичного скорочення були отримані силові відгуки півсаркомеру. Аналогічно до експерименту на м'язових волокнах (Getz, Cooke et al. 1998), сила змінювалась характерним чином в дві фази. Спочатку відбувалося швидке зростання (фаза I), після розтягання півсаркомеру до критичної довжини сила виходила на плато (фаза II), рис. 5. Наявність еластичності філаментів збільшувало критичну довжину переходу між фазами I та II. Основний чинник цього збільшення механічний – збільшення загальної еластичності півсаркомеру завдяки еластичності філаментів. В півсаркомерах з жорсткими філаментами між фазами I та II спостерігається овершут сили та коливання сили в фазі II. Коливання є проявом



колективних ефектів в роботі поперечних містків, що обумовлені дискретністю ґратки філаментів. В експерименті ці коливання відсутні, їх відсутність пов'язують з

Рис. 5. Силовий відгук півсаркомеру на його розтягування з постійною швидкістю. Показані відгуки півсаркомерів з різною жорсткістю філаментів (швидкість розтягування $V=1$ мкм/с), а також експериментальна крива (Getz, Cooke et al. 1998) ($V=-0.8 - -1$ мкм/с)

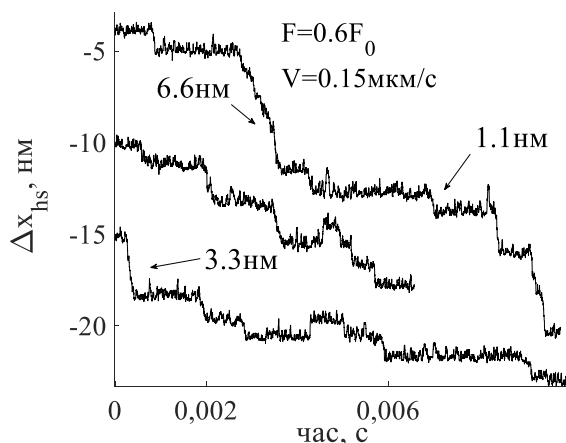
розсинхронізацією роботи поперечних містків на рівні міофібрил (неоднорідність довжин саркомерів) або саркомеру (відсутність латеральної симетрії). Ці результати вказують на те, що еластичність філаментів як фактор, що призводить до змін регулярності структури ґратки філаментів, може бути додатковим механізмом (поруч з неоднорідністю довжин саркомерів в м'язовому волокні або відсутністю латеральної симетрії на рівні окремого саркомеру), що обумовлює розсинхронізацію роботи поперечних містків в м'язовому волокні. Причому, така неоднорідність може виникати навіть на рівні окремої пари скорочувальних філаментів

Еластичність філаментів впливала на швидкість відновлення сили після розтягування. Спостережувана швидкість відновлення зменшується при збільшенні еластичності філаментів. Основний чинник, що визначає величину швидкості відновлення – це значення константи швидкості $k_{21}(\varepsilon^{(2)})$ в області $\varepsilon^{(2)} \in 4 < \Delta < 8$ нм (Getz, Cooke et al. 1998), але наявність локальних деформацій еластичних філаментів значним чином модулює її вплив на спостережувану кінетику. Аналогічне уповільнення перехідної динаміки також спостерігалось нами і при симуляції активації півсаркомеру в ізометричному режимі. Таке уповільнення кінетики узгоджується з наявними експериментальними даними (Linari, Piazzesi et al. 2009).

Розділ 5. В цьому розділі в рамках стохастичної моделі розглядаються результати симуляції ковзання півсаркомеру в ізотонічному режимі. Розглядались кооперативні ефекти, що виникають в роботі сукупності поперечних містків, роль в їх формуванні просторової структури ґратки філаментів, її дискретності.

Східчасті зміни довжини півсаркомеру. В попередньому розділі зазначалось, що траєкторія ковзання півсаркомеру в ізотонічному режимі носить східчастий характер. Якщо ж подивитись на цю траєкторію в часовому масштабі, що значно перевищує масштаб хімічних перетворень окремих містків (рис. 6), можна побачити наявність великих («великомасштабних») сходинок, які складаються з багатьох дрібних сходинок одного напрямку. Далі, якщо не зазначене інше, мова буде йти саме про такі великомасштабні сходинки.

Схоже явище спостерігалось в ряді експериментальних робіт (Pollack, Vlyakhman et al. 2005). Використовуючи процедуру автоматичної ідентифікації сходинок, ми кількісно порівняли статистику висоти сходинок траєкторії в моделі з експериментальними результатами (Pollack, Vlyakhman et al. 2005). Аналогічно до експерименту, розподіли сходинок мають полімодальний характер, рис. 7. Є сходинки мінімального розміру (1.1 нм), що зустрічаються найчастіше, а також



сходинки з величиною, приблизно кратною величині мінімальної сходинки, рис. 7. При збільшенні швидкості ковзання співвідношення великих та маленьких

Рис. 6. Фрагменти траєкторій зміни довжини півсаркомеру (Δx_{hs}) в ізотонічному режимі для одного зі значень зовнішнього навантаження F (зазначена в одиницях ізометричної сили F_0). Стрілками показані деякі з великомасштабних сходинок з зазначенням їх приблизної висоти.

сходинок міняється аналогічно експерименту. Модель відрізняється від експерименту розміром мінімальної сходинок. В моделі вона дорівнює 1.1 нм, в експерименті 2.5 нм.

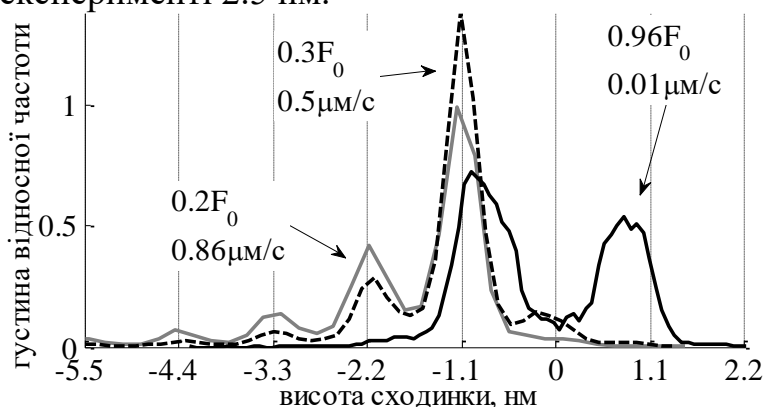


Рис. 7. Гістограма розподілу величини великомасштабних сходинок у траєкторії скорочення півсаркомеру при різних зовнішніх навантаженнях F . Для кожної кривої зазначені значення F в одиницях ізометричної сили F_0 а також середня швидкість ковзання.

відривів $2 \rightarrow 1$ слабозв'язаних містків. Плато сходинок є результатом повільних зв'язувань поперечних містків та виконання ними робочого ходу. Появу синхронізації визначають декілька чинників. По-перше, містки є механічно зв'язаними між собою, і один поперечний місток, змінюючи положення актинового філаменту, буде міняти розташування по відношенню до зв'язувальних центрів вільних містків та деформації зв'язаних. Таким чином, при наявності залежності хімічних переходів від деформації містка, один місток може впливати на циклічну роботу інших. Так, в нашій моделі припускається, що імовірність переходу $2 \rightarrow 3$ збільшується зі зменшенням деформації ξ . Ця залежність нелінійна (другий чинник) – є певне значення деформації (ξ_c), після якого імовірність робочого ходу різко збільшується. Таким чином, одні містки, виконуючи робочий хід та скорочуючи півсаркомер, можуть збільшувати імовірність робочого ходу інших містків. Це спостерігається на плато сходинок при скороченні, деякі зі слабозв'язаних містків виконують робочий хід, збільшуючи константу швидкості k_{23} інших слабозв'язаних містків. Але ключову роль в синхронізації відіграє дискретність деформацій містків (рис. 8). Певне значення деформації, з дискретного набору, мають відразу декілька містків (на рис. 8 кожній такій групі відповідає один зі стовпчиків, висота стовпчика визначає кількість містків в цій групі). Переміщення актину будуть міняти деформації (а відповідно і хімічні властивості) кожного містка такої групи однаковим чином. Отже, якщо одна з таких груп містків перетне деформацію ξ_c , імовірність виконання робочого ходу для всіх містків цієї групи різко зростає, вони будуть виконувати робочий хід майже одночасно.

Розмір великомасштабних сходинок визначається кроком дискретного набору деформацій (на рис. 8 це відстань між сусідніми стовпчиками). Періодичність змін траєкторії можлива завдяки періодичному характеру змін розподілів поперечних містків при їх адвективних зміщеннях в просторі деформацій. Оскільки розподіли є

Зіставляючи просторово-часову динаміку розподілів зв'язаних поперечних містків та динаміку змін довжини півсаркомеру (рис. 8), було з'ясовано механізм формування великомасштабних сходинок траєкторії ковзання. Стрибки сходинок є наслідком

синхронізації механохімічних перетворень групи поперечних містків. При скороченні стрибки є результатом синхронних переходів $2 \rightarrow 3$ (робочий хід), (рис. 8, e-f, стовпчик 3), при розтягуванні –

дискретними, періодичність їх просторових змін, а відповідно, і висота сходинок будуть обмежені знизу відстанню s між сусідніми значеннями дискретного набору деформацій (відстань вздовж осі абсцис для двох будь-яких сусідніх стовпчиків на діаграмі рис. 8). В нашій моделі величина s складала 1.1 нм.

В роботі були знайдені характеристики дискретної множини деформацій еластичних елементів поперечних містків, їх кількісний зв'язок з геометричними параметрами ґратки півсаркомеру. Зокрема, величина кроку s цієї дискретної множини, а також розмір множини n_{bs} можуть бути знайдені з рівняння з двома невідомими: $l_{mn}n_{cb} = l_{an}n_{bs}$. В цьому рівнянні параметри l_{mn} та l_{an} визначають періодичність розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів. Величина кроку дорівнює $s = l_{an}/n_{cb}$.

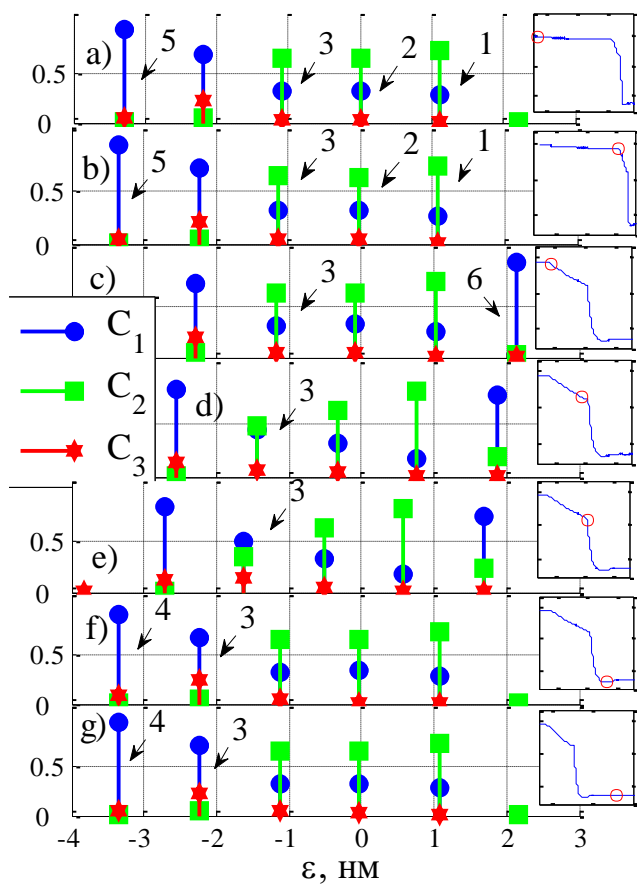


Рис. 8. Динаміка дискретних розподілів $C_i(t, \varepsilon)$ поперечних містків в різних хімічних станах i на протязі здійснення півсаркомером великомасштабної сходинки при скороченні. Діаграми а)-г) відповідають окремим моментам часу. На врізаннях, на кожній з діаграм, показані частини траєкторії ковзання, маркером на траєкторії вказана довжина півсаркомеру в той же момент часу, для якого побудовані і миттєві розподіли цієї діаграми. Заселеності для деяких з дискретних груп містків позначені стрілками з

Розділ 6. В даному розділі представлений підхід, ґрунтуючись на якому можна побудувати детерміністичну модель, що апроксимує рішення стохастичної просторово-розподіленої моделі саркомеру з дискретним розташуванням поперечних містків та зв'язувальних центрів в ґратці філаментів (розділ 3). Детерміністична апроксимація відтворює результати стохастичної моделі для випадку великої кількості поперечних

містків в припущенні, що міофіламенти є жорсткими.

Дискретність деформацій еластичних елементів поперечних містків дозволяє розбити їх сукупність на окремі групи з однаковими хімічними властивостями. При великій кількості містків в кожній групі замість моделювання стану кожного окремого містка ми можемо статистично моделювати стан всієї групи, використовуючи відповідні кінетичні рівняння. В розділі 5 наведена система кінетичних рівнянь (що представлені системою звичайних диференційних рівнянь (ЗДР)). Також наведені умови нормування та граничні умови, що враховують циклічний характер відстаней між поперечними містками та зв'язувальними центрами. В залежності від режиму роботи, який симулюється, модель має бути доповнена відповідними рівняннями, що визначають динаміку зміни положення актину. Чисельне розв'язання рівнянь динамічної системи відбувається відповідно

до наведеного в розділі 5 алгоритму, що враховує граничні умови та потребує залучання процедури детекції перетину нулів. Якщо кінетичні рівняння представити системою стохастичних диференційних рівнянь (СДР), в запропонованій моделі також частково можна врахувати стохастичність, що є наявною в моделі, яка використовує Монте-Карло симуляцію. Була здійснена верифікація адекватності апроксимації, рис. 9. Також була показана можливість використання запропонованого підходу для апроксимації рішень моделей в диференційних рівняннях в частинних похідних (ДРЧП), наприклад, заснованих на формалізмі Хакслі (Huxley, 1957). В цьому випадку, застосування запропонованого підходу має значно кращу чисельну стабільність порівняно зі стандартними чисельними методами розв'язку ДРЧП.

В рамках підходу детерміністичної апроксимації було розроблено ряд моделей, що застосовувались для подальшого, більш систематичного, вивчення східчастого ковзання в ізотонічному режимі. Здійснюючи симуляції з різними параметрами ґратки, ми показали, що обмеження знизу на розмір елементарних сходинок накладаються величиною періоду дискретного набору деформацій еластичного елемента поперечних містків s для безкінечно довгих товстого та тонкого філаментів. Для філаментів скінченної довжини фактичний розмір сходинок траєкторії залежить від ряду додаткових чинників: від кількості поперечних містків, від взаємного зміщення товстого та тонкого філаментів, від форми залежностей констант швидкостей переходів в механохімічному циклі.

В формуванні сходинок з величиною, що в декілька разів є більшою за елементарну, важливу роль відіграє шум. Група містків, що має здійснити механохімічні синхронні переходи, може бути перекинута через граничне значення ξ_c завдяки випадковим флуктуаціям довжини. Разом з тим таке злиття зменшує вірогідність ще одного такого перекидання. Це пояснює форму розподілів сходинок, що були отримані в стохастичній моделі (рис. 7).

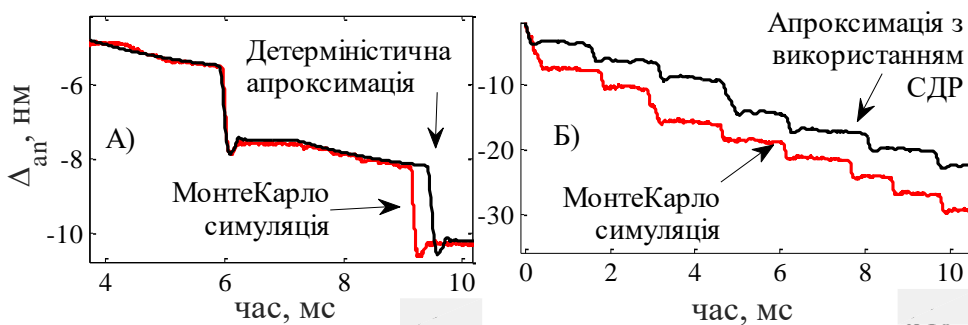


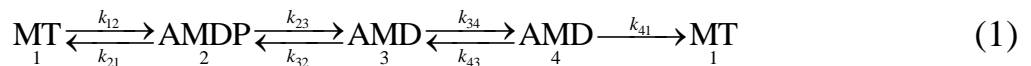
Рис. 9. Порівняння результатів симуляції ізотонічного скорочення, показані фрагменти траєкторій ковзання півсаркомеру.

Обравши відповідні значення для l_{mn} та l_{an} , ми отримали сходинки траєкторії величина яких співпадає з експериментальним значенням (2.7 нм, рис. 9), при цьому періоди l_{mn} та l_{an} були близькими, але дещо

відрізнялись від експериментальних значень. Крім того, величина сходинки нелінійно залежить та є чутливою до змін l_{mn} та l_{an} . Було зроблено висновок про те, що не дивлячись на значну якісну схожість східчастої динаміки ковзання в моделі та експерименті, експериментальна динаміка не може бути пояснена лише на основі кооперативних ефектів, обумовлених структурними обмеженнями дискретної ґратки.

Розділ 7. Експериментально в'язкопружні властивості активного м'язового волокна вивчають, збурюючи його довжину сходинкою або по гармонійному закону з різною частотою, при цьому реєструють зміни його напруження. Релаксація сили після східчастих змін довжини може відбуватись в 3 фази, що мають різну характерну швидкість, амплітуду та знак (фази II – IV). Силовий відгук може бути представлений сумою трьох експоненційних функцій, які називають експоненційними процесами (A), (B) та (C) та відповідають за формування фаз IV, III та II відповідно. При гармонійних змінах довжини напруження міняється по гармонійному закону, амплітуда та фаза цих коливань є функцією частоти. Годограф Найквіста, або комплексний модуль, яким представляють цю частотну залежність, складається з трьох арок (Kawai and Brandt 1980), які представляють експоненційні процеси (A), (B) та (C) в частотному домені. Вважається, що експоненційний процес (C) лежить в основі явища затриманої активації/деактивації літальних м'язів та в основі роботи літальних та серцевого м'язів в осциляторному режимі.

В рамках формалізму, описаного в розділі 6, з використанням методів оптимізації, було побудовано детерміністичні просторово розподілені моделі півсаркомеру, що відтворюють в'язкопружні властивості активного м'язового волокна кролика (Kawai, M., 1986), рис. 10. В моделях ефективний механохімічний цикл поперечних містків включав 4 стани:



Константи швидкості переходів, в загальному випадку, є функціями деформації ξ_i

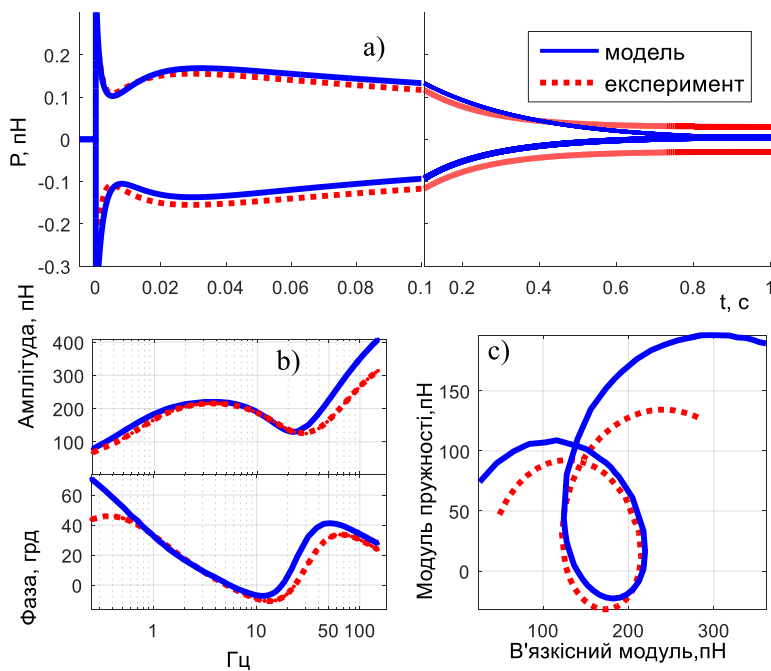


Рис. 10. Перехідні (а) та частотні (б, с) характеристики, що були отримані в моделі (набір параметрів М8) та в експерименті. Сила перерахована на поперечний місток.

поперечного містка $k_{ij}(\xi_i)$. При виборі функціональних залежностей $k_{ij}(\xi_i)$

використовувались запозичені з інших робіт принципи, що ґрунтуються на структурних, механічних дослідженнях (Siemankowski, Wiseman et al. 1985, Smith and Geeves 1995, Veigel, Molloy et al. 2003, Nyitrai and Geeves 2004). В загальному випадку припускалось, що кожен з прямих переходів $i \rightarrow j$ сполучений з конформаційними змінами міозинової головки, які міняють деформацію еластичного елемента на величину $d_i \geq 0$. В ході оптимізації здійснювалось варіювання параметрів, які

стосуються кінетичних та механічних властивостей поперечних містків. Діапазони варіювання параметрів обмежувались так, щоб вони залишались в рамках існуючих

експериментальних значень. Оскільки для тих чи інших параметрів експериментальних значень може існувати одразу декілька, відповідно, було сформовано декілька різних наборів початкових значень параметрів, а також діапазонів їх варіювання. В якості цільових функцій використовувались частотні характеристики м'язового волокна кролика, отримані експериментально (Kawai, M., 1986), а також отримані з передавальної функції м'язового волокна (Kawai, M., 1986) його перехідні характеристики. Було отримано декілька наборів параметрів моделі, які в різному ступеню співпадають з експериментом (рис. 10), але в будь-якому випадку демонструють наявність трьох експоненційних процесів.

В рамках отриманих моделей здійснювалась симуляція експериментів по гармонійній та східчастій зміні довжини. Було встановлено природу експоненційних процесів (A), (B) та (C). Для цього, ми аналізували, як збурення довжини впливають на розподіли $C_i(t, \xi_i)$ зв'язаних поперечних містків, та як ці зміни відбиваються в змінах сили півсаркомеру. На рис. 11 показані результати симуляції, в одній з моделей східчастого розтягування довжини півсаркомеру. Перед зміною довжини півсаркомер скорочується ізометрично і всі розподіли набувають стаціонарної форми. Зміни довжини призводять до миттєвих адвективних зміщень ізометричних розподілів. Далі, завдяки хімічним переходам відбувається процес їх поступового відновлення до ізометричної форми. Оскільки амплітуда змін довжини є малою, зміни зачіпають тільки крайові ділянки розподілів. Процес відновлення стосується, головним чином, тільки країв розподілів. Оскільки константи швидкості механохімічних переходів залежать від деформації поперечних містків, в загальному випадку, різні краї одного розподілу можуть мати різну швидкість відновлення. Так з рис. 11 видно, що найшвидше відновлюються праві краї розподілів C_3 , C_4 та лівий край C_2 . В середньому часовому масштабі відновлюються ліві краї C_3 та C_4 . Найповільніше відновлюється правий край C_2 . Відновлення країв є результатом циклічних переходів поперечних містків і тому супроводжується змінами сили півсаркомеру $P(t)$ (рис. 11). Загальна сила півсаркомеру $P(t)$ дорівнює сумі сил містків в усіх зв'язаних станах. Таким чином релаксація сили до ізометричного рівня після змін довжини буде складатись з декількох компонент, що відображають процеси відновлення тих чи інших країв розподілів. Компоненти будуть мати експоненційний характер, їх буде стільки, скільки є країв з різною характерною швидкістю відновлення. Хоча з кожною з компонент пов'язано відновлення декількох країв, деякі з них мають домінуючий вклад, це визначається деформацією та кількістю містків, що належать краю. Статичні та динамічні параметри експоненційних процесів визначаються просторовими та динамічними параметрами збурених крайових ділянок. Характерна швидкість експоненційних процесів визначається ефективною швидкістю відновлення відповідних крайових ділянок. Початкова амплітуда визначається розташуванням крайових ділянок вздовж осі деформацій та площиною розподілу в цій ділянці. Напрямок експоненційного процесу визначається тим, чи є край лівим або правим, а також тим, в області позитивних чи негативних деформацій він знаходиться. Праві краї будуть створювати експоненційний процес, знак якого співпадає зі знаком змін довжини. Ліві краї розподілів поперечних містків в сильнозв'язаних станах, навпаки,

інвертують знак вхідного сигналу. Звідси витікає, що процеси (А) та (С) можуть бути наслідком відновлення правих країв розподілів, які мають відповідну характерну швидкість відновлення; процес (В) – лівого краю розподілу поперечних містків в сильнозв'язаному стані. Якщо казати про конкретну модель з рис. 11, експоненційним процесам (С), (В) та (А) відповідає (головним чином) відновлення правого краю C_3 , лівого краю C_3 та правого краю C_2 відповідно.

При гармонійних змінах довжини зміни сили так само визначаються поведінкою країв розподілів. Якщо частота коливань довжини є значно меншою за характерну частоту відновлення краю при змінах довжини, край буде залишатись в стаціонарному стані, поперечні містки, що йому належать, не будуть давати вкладу в зміни сили. Якщо частота коливань довжини є значно більшою за характерну частоту відновлення краю, край буде адвективно переміщуватись то вперед то назад не міняючи форми. В цьому випадку край поводить себе як виключно еластичний елемент, його вклад в загальну силу є максимально можливим. Якщо ж частота коливань довжини є близькою до характерної частоти відновлення краю, одночасно з переміщеннями краю відбуваються складні зміни його форми. Частотні характеристики краю еквівалентні частотним характеристикам фільтру високих

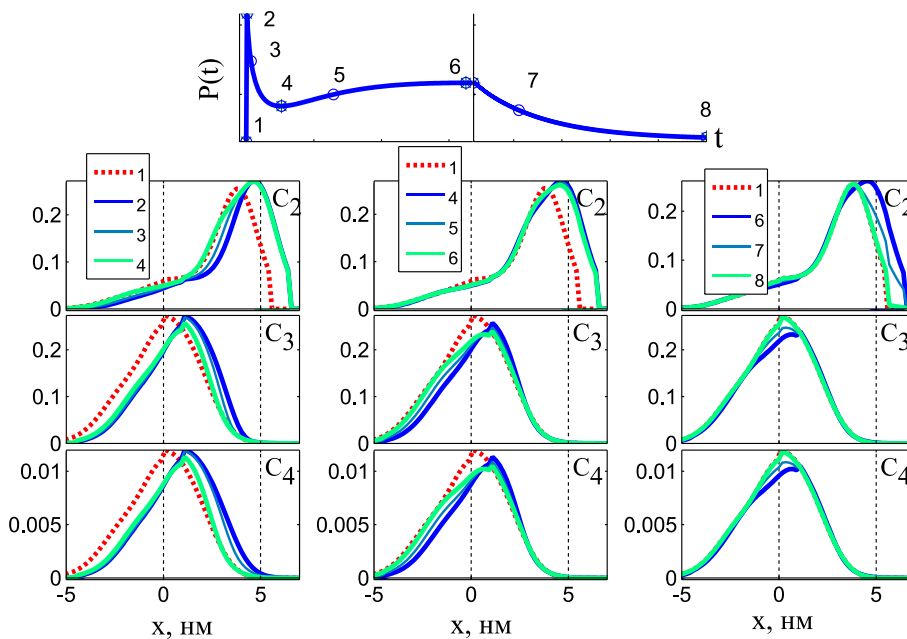


Рис. 11. Миттєві розподіли $C_i(t,x)$ зв'язаних поперечних містків на окремих етапах силового відгуку $P(t)$ півсаркомеру на його східчає розтягування. Пронумеровані маркери на кривій $P(t)$ виділяють значення сили в певні моменти часу. Маркер 1 відповідає ізометричному режиму, маркери 2, 4 та 6 відповідають початку фаз II, III та IV силового відгуку. Номери кривих розподілів $C_i(t,x)$, що показані в легендах, відповідають номерам маркерів, тобто ці розподіли були отримані для того ж моменту часу, що і напруга, позначена маркером.

молекулярних подій, що лежать в основі експоненційних процесів. Відмінності цих сценаріїв, в першу чергу, пов'язані з відмінностями значень константи k_{41} , що

частот. Коефіцієнт підсилення на безкінечній частоті визначається деформацією та кількістю містків, що належать краю. Частота зрізу визначається характерною швидкістю відновлення краю. Ліві краї розподілів сильнозв'язаних містків інвертують сигнал на безкінечній частоті. Праві краї еквівалентні неінвертуючому фільтру. Три арки годографу Найквіста півсаркомеру відповідають, як мінімум, трьом різним краям (двом правим та одному лівому) з різними характеристиками.

Аналіз показав наявність в отриманих моделях двох сценаріїв

впливали на рівень заселеності стану 4. В цих двох сценаріях процес (С) виникає внаслідок відновлення правого краю розподілу C_3 або, ще додатково, правого краю розподілу C_4 . Це відновлення – результат або переходів, сполучених з виконанням прямого та зворотного робочого ходу (переходи $2 \rightleftharpoons 3$), або, при розтягуванні, відривів поперечних містків зі стану 4. Процес (В), пов'язаний зі зв'язуваннями або відривами в першій сильнозв'язаний стан 3 (лівий край розподілу C_3). При розтягуванні це переходи $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3$, при скороченні - переходи $3 \rightarrow 4 \rightarrow 1$. Процес (А) пов'язаний з повільним відновленням правого краю розподілу C_2 завдяки обміну поперечними містками між вільним та слабозв'язаним станами (переходи $1 \rightleftharpoons 2$). Прив'язка експоненційних процесів до певних хімічних переходів та станів поперечних містків в отриманих моделях дещо відрізнялась від схеми, що була запропонована в (Kawai, Halvorson 2007).

Отриманий механізм реалізації в'язкопружних властивостей показує важливість врахування просторової складової. В роботі показана обмеженість редукованих кінетичних моделей в здатності реалізувати такий механізм (наприклад, моделі (Kawai and Halvorson 2007, Palmer, Suzuki et al. 2007, Palmer, Wang et al. 2011)). Показано, що більш адекватною апроксимацією просторово розподіленої моделі може бути кінетична модель, що включає не один, а декілька паралельних механохімічних циклів. Кожен з них буде відображати циклічні перетворення груп містків, що належать тим чи іншим краям розподілів (ділянкам деформацій). Було побудовано ряд таких спрощених кінетичних моделей, що дозволяють відтворити силовий відгук на східчасті зміни довжини. Метою побудови цих моделей була оцінка наявності альтернативних сценаріїв до тих, що були отримані в ході автоматичної оптимізації. Була отримана модель, в якій процес (В) пов'язаний з етапом виконання робочого ходу як при розтягуванні, так і при скороченні, аналогічно до (Kawai and Halvorson 2007), а не тільки при розтягуванні, як це було отримано при оптимізації просторово розподіленої моделі. Також була показана наявність принципових труднощів для реалізації в просторово розподіленій моделі швидкого процесу (С) відповідно до сценарію (Kawai and Halvorson 2007).

ВИСНОВКИ

Проведені дослідження свідчать, що просторова складова скорочувального апарату м'язового волокна відіграє важливу функціональну роль у молекулярному механізмі його роботи. Впливаючи на кінетику циклічної роботи поперечних містків та генерацію ними сили, формуючи колективні ефекти в їх роботі, та будучи важливою складовою механізму сполучення змін довжини і сили півсаркомеру, просторова складова є фактором, від якого залежать спостережувані макроскопічні властивості м'язового волокна.

1. Побудована просторово розподілена стохастична модель півсаркомеру з еластичними філаментами нанорівня. Розроблена модель більш точно відтворює експериментальну механіку розтягування м'язового волокна в ізотонічному та ізокінетичному режимах.

2. Показано, що в стаціонарних та нестаціонарних режимах роботи півсаркомеру наявність еластичності скорочувальних філаментів впливає на спостережувані

механічні закономірності його роботи. Цей вплив має «пасивну» та «активну» складові. Пасивна, є результатом збільшення загальної еластичності півсаркомеру. Активна складова реалізується завдяки появі локальних деформацій структури ґратки скорочувальних філаментів. Такі деформації впливають на циклічну роботу поперечних містків, їх здатність виконувати механічну роботу та колективні ефекти в роботі їх сукупності. Цей вплив має враховуватись при інтерпретації експериментальних результатів.

3. У рамках стохастичної моделі отримано стрибкоподібну динаміку змін довжини півсаркомеру в ізотонічних умовах. Ця динаміка має значну якісну схожість з аналогічною динамікою, що спостерігається в експерименті. Сходинок траєкторії є результатом синхронізації роботи окремих поперечних містків. Важливим чинником такої синхронізації є дискретність розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів у ґратці філаментів. Величина сходинок визначається кроком дискретного набору деформацій, який в свою чергу залежить від кроку періодичності розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів.

4. На основі вивчення закономірностей взаємодії поперечних містків з актином в дискретній ґратці філаментів розроблена детерміністична апроксимація стохастичної просторово розподіленої моделі пари скорочувальних філаментів, що використовує Монте-Карло симуляцію. Була показана можливість використання запропонованого підходу для апроксимації рішень моделей у ДРЧП, наприклад, заснованих на формалізмі Хакслі.

5. У рамках детерміністичного підходу було побудовано ряд моделей, що апроксимують стохастичні моделі, зокрема, відтворюють стрибкоподібний характер ковзання в ізотонічному режимі. Показано важливу роль шуму в механізмі формування сходинок, що в декілька разів більші за елементарну. Встановлено, що спостережувана в експерименті динаміка не може бути пояснена тільки лише на основі кооперативних ефектів, обумовлених структурними обмеженнями дискретної ґратки.

6. Із використанням методів комп'ютерної оптимізації створено ряд детерміністичних просторово розподілених моделей, що відтворюють в'язкопружні властивості активного м'язового волокна кролика. Показано, що експоненційні процеси (А), (В) та (С) є наслідком крайових ефектів, що виникають на межі суміжних ділянок, з різним рівнем щільності, розподілів зв'язаних поперечних містків. Динаміка експоненційних процесів та її параметри пов'язані з динамікою відновлення крайових ділянок, збурених змінами довжини. Показано важливість просторової складової в реалізації механізму спостережуваних в'язкопружних властивостей та обмеження редукованих кінетичних моделей реалізувати такий механізм.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Mishchenko A.M., Dotsenko O.I., Taradina G.V.** Deterministic approximation of stochastic spatially explicit model of actin-myosin interaction in discrete filament lattice. *Gen Physiol Biophys.* 2018. Vol. 37, No 4. P. 363–374. doi: 10.4149/gpb_2018005. (IF=1,479) (Здобувач – опрацював літературу, здійснив розрахунки та їх аналіз, здійснив узагальнення результатів, підготував статтю до друку)
2. **Мищенко А.М., Беспалова С.В.** Пространственно распределенная модель полусаркомера с эластичным актином и миозином: зависимость скорость – сила. *Фізика живого.* 2008. Том.

- 16, № 2. С. 38–57. (Здобувач – опрацював літературу, здійснив розрахунки та їх аналіз, здійснив узагальнення результатів, підготував статтю до друку)
3. **Мищенко А.М.**, Беспалова С.В. Моделирование частотных характеристик мышцы с использованием непрерывной пространственно распределенной модели. *Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону*. 2011. Том. 11, № 1. С. 310–322. (Здобувач – опрацював літературу, здійснив розрахунки та їх аналіз, здійснив узагальнення результатів, підготував статтю до друку)
 4. **Мищенко А.М.**, Беспалова С.В. Моделирование переходных характеристик мышцы с использованием непрерывной пространственно распределенной модели. *Вісник Донецького Національного Університету, Сер. А: Природничі науки*. 2012. № 1. С. 183–191. (Здобувач – опрацював літературу, здійснив розрахунки та їх аналіз, здійснив узагальнення результатів, підготував статтю до друку)
 5. **Мищенко А.М.**, Тарадіна Г.В. Роль структури саркомера в синхронізації роботи поперечних містків: молекулярний механізм східчастих змін довжини. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2017. Том. 76. С. 3–14. (Здобувач – опрацював літературу, здійснив розрахунки та їх аналіз, здійснив узагальнення результатів, підготував статтю до друку)
 6. Беспалова С.В., **Мищенко А.М.** Модель полусаркомера, учитывающая эластичные свойства филаментов. *Проблеми біологічної і медичної фізики. «ПБМФ – 2004»: матеріали I Української наукової конференції*, Харків: ХНУ ім. Каразіна, 20–22 вересня 2004. Харків, 2004. С. 160.
 7. Беспалова С.В., **Мищенко А.М.** Синхронізація роботи поперечних містків у просторово розподіленій моделі полусаркомера з еластичними філаментами. Молодь і поступ біології: Матеріали IV Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів, Львів, 7–10 квітня 2008. Львів, 2008. С. 5.
 8. Беспалова С.В., **Мищенко А.М.** Изучение механизма синхронизации работы поперечных мостиков в пространственно распределенной модели полусаркомера. International Conference «NANOBIOPHYSICS: fundamental and applied aspects», Харків: ФТІНТ, 5–8 Жовтня 2009. Харків, 2009. С. 60.
 9. Беспалова С.В., **Мищенко А.М.** Механо-кинетическая пространственно-распределенная модель саркомера. Тези доповідей V з'їзду українського біофізичного товариства, Луцьк-Світязь, 22-25 червня 2011. Луцьк, 2011. С. 124.
 10. **Mishchenko A.M.**, Taradina G.V. *Deterministic approximation of stochastic spatially explicit model of actin-myosin interaction in discrete filament lattice: formulation and application to modeling of the transient oscillatory response of muscle*. Materials of 2nd International Conference on Biomedical Sciences "Smart Bio", Lithuania, Kaunas, 3 May 2018. Kaunas, 2018. С. 104.
 11. **Мищенко А.М.**, Тарадіна Г.В. Молекулярний механізм в'язкоеластичних властивостей активного м'язу: роль розподілу концентрацій поперечних містків в просторі їх деформацій. Матеріали XIII Міжнародної конференції по прикладній біофізиці, біоніці та біокібернетиці, Київ, 18-20 жовтня 2018. Київ, 2018. С. 35–36.

АНОТАЦІЯ

Мищенко А.М. Модельне дослідження ролі просторової структури саркомера в молекулярному механізмі м'язового скорочення – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.02 «біофізика». – Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2019.

Досліджено вплив локальних деформацій ґратки еластичних скорочувальних філаментів на роботу півсаркомера в стаціонарних і нестаціонарних режимах, та

його механізм.

На прикладі явища східчастого ковзання півсаркомеру показано важливу роль дискретності ґратки філаментів як чинника в утворенні кооперативних ефектів в роботі поперечних містків. Розроблено детерміністичну апроксимацію стохастичної просторово розподіленої моделі пари скорочувальних філаментів, що використовує Монте-Карло симуляцію.

Створено ряд моделей, що відтворюють в'язкопружні властивості активного м'язового волокна кролика. Проаналізовано механізм перехідних та частотних характеристик, механізм сполучення змін довжини та сили. Показано важливість просторової складової в реалізації механізму спостережуваних в'язкопружних властивостей.

Ключові слова: саркомер, поперечні містки, просторово розподілена модель, в'язкопружні властивості, кооперативний ефект, еластичність скорочувальних філаментів

АННОТАЦІЯ

Мищенко А.М. Модельное исследование роли пространственной структуры саркомера в молекулярном механизме мышечного сокращения – Квалификационная научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук (доктора философии) по специальности 03.00.02 «биофизика». – Львовский национальный университет имени Ивана Франко, Львов, 2019.

Исследовано влияние локальных деформаций решетки эластичных сократительных филаментов на работу полусаркомера в стационарных и нестационарных режимах, его механизм.

На примере явления ступенчатого скольжения полусаркомера показано важную роль дискретности решетки филаментов как фактора участвующего в формировании кооперативных эффектов в работе поперечных мостиков. Разработана детерминистическая аппроксимация стохастической пространственно распределенной модели пары сократительных филаментов, использующей Монте-Карло симуляцию.

Создан ряд моделей, воспроизводящих вязкоупругие свойства активного мышечного волокна кролика. Проанализирован механизм переходных и частотных характеристик, механизм сопряжения изменений длины и силы. Показана важность пространственной составляющей в реализации механизма наблюдаемых вязкоупругих свойств.

Ключевые слова: саркомер, поперечные мостики, пространственно распределенная модель, вязкоупругие свойства, кооперативный эффект, эластичность сократительных филаментов

SUMMARY

Mishchenko A.M. Simulation study of sarcomere structure role in molecular mechanism of muscle contraction – Manuscript.

PhD Thesis in Biological Science, speciality 03.00.02 «Biophysics». – Ivan Franko Lviv National University, 2019.

Some aspects of relationship between sarcomere structure and muscle function are still poorly understood. The aim of the work was to study the functional role of the

myofilaments spatial structure in the process of sarcomere force generation and sliding in various contraction modes. Role of spatial structure has been studied in several aspects: its ability to modulate actomyosin interactions; its role in the cooperative effects formation in molecular motor assemblies; role of spatial effects in molecular mechanism of viscoelastic behavior of active muscle fibers. In order to reproduce constraints imposed on the interactions of cross bridges with actin binding sites in filament lattice the study used spatially distributed models.

To understand the role of filaments lattice compliance and their local deformations in sarcomere mechanics a stochastic mechanochemical model of the pair compliant contractile filaments was considered. The presence of elasticity of contractile filaments influenced the sarcomere mechanics during isotonic contraction, isometric force development and force response to ramp lengthening. Local filaments deformations modulate actomyosin interactions by changing the mutual arrangement of cross-bridges and binding sites. They also affect the cooperative effects of cross-bridges by changing the regularity of the filament lattice structure. The presence of elasticity can also affect the mechanical operation of individual cross-bridges. The work that they do partially goes to the deformation of elastic filaments.

It is shown that the discreteness of the filament lattice can be an important factor in the formation of collective effects between myosin motors. In particular, stepwise sliding of the half-sarcomere in isotonic mode was considered. The basis of such motion is the synchronization of individual cross-bridges mechanochemical transitions. Continuous histograms of step-size distribution that were retrieved in the model are similar to that obtained in the experiment. A mechanism and essential conditions for stepwise motion appearance in isotonic transient response, relations of their parameters with geometrical ones of filaments lattice were examined.

Deterministic approximation of stochastic model that considers a pair of rigid contractile filaments interaction was introduced. Approximation background is discreteness of spacing between cross-bridges and binding sites. Due to this property cross-bridges can be divided into discrete groups with the same strain and considered statistically using the set of ordinary differential equations. Deterministic model is more computationally efficient, operates with average values. A comparison with Monte Carlo simulation demonstrates that approximation reproduces results for stochastic model with large number of cross-bridges. The proposed approach can also be applied to approximation of continuous Huxley-based models solutions. Advantage in this case over existing numerical methods is their greater numerical stability.

A number of deterministic spatially distributed models that reproduce the viscoelastic mechanics of active rabbit psoas muscle fibers were created with using global optimization methods. The analysis of the spatiotemporal dynamics of the attached cross-bridges distributions during the simulation of step and sinusoidal length perturbations, showed that the exponential processes (A), (B) and (C) are related with recovery of a disturbed edge areas of cross-bridges distributions. The importance of the spatial constrains in the implementation of the mechanism of the observed viscoelastic properties was shown.

Key words: sarcomere, cross-bridges, spatially explicit model, viscoelastic properties, collective effects, contractile filaments compliance