

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТУСА
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

МІЩЕНКО Артем Михайлович

УДК 577.353.2:577.353.3:577.353.5

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

03.00.02-біофізика

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

А. М. Міщенко

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник – **Доценко Ольга Іванівна**, кандидат хімічних наук, завідувач
кафедрою біофізики

Вінниця – 2019

АНОТАЦІЯ

Міщенко А.М. Модельне дослідження ролі просторової структури саркомеру 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». – Донецький національний університет імені Василя Стуса, Вінниця 2019; Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2019.

Ряд аспектів ролі структури саркомеру та функцій м'язу залишаються незрозумілими. Метою роботи було дослідження функціональної ролі просторової структури скорочувального апарату м'язового волокна в молекулярному механізмі його роботи. Вивчення ролі просторової структури ведеться в декількох аспектах: в аспекті її здатності модулювати актоміозинові взаємодії; бути чинником в створенні кооперативних ефектів в роботі сукупності поперечних містків; в аспекті аналізу необхідності врахування просторової складової для відтворення механізму певних закономірностей роботи м'язів. Дослідження проводились в рамках просторово розподілених моделей півсаркомеру, які враховують обмеження, що їх накладає дискретна ґратка філаментів на взаємодію між міозином та актином.

Була побудована просторово розподілена модель півсаркомеру, що складається з пари скорочувальних філаментів. Модель явним чином враховує наявність еластичності скорочувальних філаментів, дозволяє відтворити механічні закономірності, які спостерігають при розтягуванні скелетного м'язового волокна [1]. Показано, що в стаціонарних (ізотонічне ковзання) та нестаціонарних (активація в ізометричному режимі, рампове розтягування) режимах роботи півсаркомеру, поява невеликих локальних деформацій структури ґратки філаментів, які пов'язані з наявністю у них еластичності, може впливати на спостережувані закономірності роботи півсаркомеру. В ізотонічному режимі були отримані концентрична та ексцентрична частини залежності сила-швидкість. Під час ізотонічного ковзання наявність локальних деформацій філаментів призводила до зменшення ізометричної сили та збільшення швидкості розтягування півсаркомеру. В ізометричному режимі

та під час ізокінетичного розтягування локальні деформації уповільнювали динаміку виходу сили на стаціонарний рівень. В ізокінетичному режимі наявність еластичності скорочувальних філаментів було фактором розсинхронізації колективної роботи сукупності поперечних містків. Вплив еластичності скорочувальних філаментів мав «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.

Показано, що дискретність ґратки філаментів може бути важливим чинником формування кооперативних ефектів в роботі поперечних містків. Зокрема, в рамках стохастичної моделі розглядалось східчає ковзання півсаркомеру в ізотонічному режимі, в основі якого лежить синхронізація роботи окремих поперечних містків. Явище східчастого або осциляторного ковзання, за певних умов, спостерігають експериментально на рівні м'язового волокна [2], саркомерів, окремої пари скорочувальних філаментів [3-6]. Східчаста динаміка ковзання була отримана в моделі з дискретною ґраткою філаментів. Проведено кількісне порівняння параметрів динаміки ковзання в моделі та експерименті. Були отримані розподіли величин сходинок. Аналогічно до експерименту розподіли мають полімодальний характер. Модель відрізняється від експерименту розміром мінімальної сходинки. В моделі вона дорівнює 1.1 нм, в експерименті 2.5 нм. Був проаналізований механізм синхронізації, знайдене співвідношення між геометричними параметрами ґратки та величиною сходинок. При скороченні стрибки сходинок були результатом синхронного виконання групою поперечних містків робочих ходів, при розтягуванні – відривів слабозв'язаних містків. Необхідними умовами для появи синхронізації були нелінійність залежності констант швидкості механохімічних переходів від деформації, а також дискретність ґратки філаментів. В дискретній ґратці деформація еластичного елемента поперечного містка є дискретною величиною. Набір усіх значень деформації утворює арифметичну прогресію з кроком s . Було показано, що

величина s обмежує знизу величину сходинок траєкторії. Значення кроку s пов'язане з геометричними параметрами ґратки, а саме з періодичністю розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів.

На основі вивчення закономірностей взаємодії поперечних містків з актином у дискретній ґратці філаментів була розроблена детерміністична апроксимація стохастичної просторово розподіленої моделі пари скорочувальних філаментів, що використовує Монте-Карло симуляцію. Апроксимація ґрунтується на дискретності відстаней між поперечними містками та зв'язувальними центрами в дискретній ґратці філаментів. Завдяки цій властивості сукупність поперечних містків може бути поділена 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. Зберігаючи просторові обмеження, що накладаються на взаємодію міозину з актином у дискретній ґратці, детерміністична апроксимація має низку переваг порівняно зі стохастичною моделлю. Детерміністична модель, побудована на основі ЗДР, є більш швидкодіюною, оперує середніми. Була показана можливість використання запропонованого підходу для апроксимації рішень моделей у ДРЧП (наприклад, побудованих в рамках формалізму Хакслі). В даному випадку використання 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. Показано, що в формуванні сходинок з величиною, що в декілька разів є більшою за елементарну, важливу роль відіграє шум, пов'язаний зі стохастичністю механохімічних переходів поперечних містків. В моделі були отримані сходинок траєкторії, величина яких співпадає з експериментальним значенням (2.7 нм). Але таке значення було отримано, коли геометричні параметри ґратки дещо відрізнялись від експериментальних, крім того, величина сходинок нелінійно залежить та є чутливою до змін цих параметрів. Було зроблено висновок про те, що не дивлячись на значну якісну схожість східчастої

динаміки ковзання в моделі та експерименті, використовуючи тільки наявні припущення, модель стикається з принциповими труднощами при отриманні величини сходинки, що співпадає з експериментальним значенням. Можливим рішенням є розгляд більш складної структури скорочувальної системи, інших припущень стосовно механізму генерації сили окремим поперечним містком та щодо його взаємодії з актином.

З використанням методів комп'ютерної оптимізації було створено ряд детерміністичних просторово розподілених моделей, що відтворюють в'язкопружні властивості активного м'язового волокна кролика. Аналіз просторово часової динаміки розподілів заселеності поперечних містків за їх деформацією в ході симуляції східчастої та гармонійної змін довжини показав, що експоненційні процеси (А), (В) та (С) пов'язані з крайовими ефектами, які виникають на межі суміжних ділянок розподілів поперечних містків з різним рівнем заселеності. 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. Показана важливість просторової складової в реалізації механізму спостережуваних в'язкопружних властивостей та обмеження редукованих кінетичних моделей реалізувати такий механізм. Розглядається можливість реалізації сценарію прив'язки експоненційних

процесів до певних хімічних переходів механохімічного циклу поперечних містків, запропонованого в роботі [7].

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

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». – Vasyl Stus Donetsk National University, Vinnitsa, 2019; Ivan Franko Lviv National University, 2019.

Some aspects of relationship between sarcomere structure and muscle function remained 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. This study used spatially distributed models, that reproduce constraints imposed on the interactions of cross bridges with actin binding sites in filament lattice.

To understand the role of filaments lattice compliance and their local deformations in sarcomere mechanics a stochastic mechanochemical model of pair compliant contractile filaments was considered. The model explicitly take into account elasticity of contractile filaments and reproduces the experimental mechanics of muscle lengthening [1]. The presence of elasticity of contractile filaments influenced the sarcomere mechanics during isotonic contraction, isometric force development and force response to ramp lengthening. During isotonic sliding, the presence of local deformation of the compliant filaments reduced the isometric force and increased the rate of half-sarcomere stretching at the same external force. At isometric activation and force recovery after ramp lengthening the local deformations slowed down the dynamics of the force response. Under ramp lengthening the presence of elasticity of contractile filaments was a factor of cross-bridges collective

behavior desynchronization. The influence of the contractile filaments elasticity had "passive" and "active" components. The passive is the result of an increase in the overall half-sarcomere elasticity. The active component is implemented due to the appearance of local deformations of the contractile filaments lattice structure. 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. This influence need to be taken into account when interpreting the experimental results.

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, within stochastic model 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. Under certain conditions, stepwise or oscillatory contraction is observed experimentally at the level of muscle fibers [2], sarcomeres, a pair of contractile filaments [3-6]. Stepwise contractile dynamics was retrieved in stochastic model. Quantitative comparison was performed between parameters of the stepwise motion in the model and experiment. Continuous histograms of step-size distribution that were retrieved in the model are similar to that obtained in the experiment. Similarly to the experiment the distributions were polymodal. The model differs from the experiment by the size of the elementary steps (1.1 nm in model versus 2.5 nm in the experiment [3-6]). 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. At half-sarcomere contraction jumps in trajectory were the result of synchronization of power strokes between group of weakly bound cross-bridges, and at lengthening they were the result of synchronization of reverse of power strokes and weakly bound cross-bridges detachments. Discreteness of spacing between cross-bridges and binding sites and nonlinearity of strain dependent transition rates between weakly and strongly bound states are basic preconditions for stepwise motion. In the discrete filaments lattice a cross-bridge

distortion is discrete value. Set of all cross-bridge distortion values forms arithmetic progression with step s . It has been shown that step size of trajectory bounded below by s . s value depends on cross-bridges and binding sites periodicity.

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.

Phenomenon of half-sarcomere stepwise sliding in isotonic mode was more systematically studied within the framework of the deterministic approximation approach. It is shown that noise which is related with stochasticity of cross-bridges chemical transitions plays important role in formation of fused steps with integer multiples of elementary step size in half-sarcomere trajectory. Stepwise movement with steps size equal to experimental one (2.7 nm) was retrieved in the model. But such step size was obtained with geometrical parameters of filaments lattice where slightly different from experimental ones. And furthermore model is sensitive to those parameters variation. Despite the fact that this dynamics is qualitatively similar to those observed experimentally, the given analysis implies that the dynamics observed in experiment cannot be explained only via cooperative effects related to structural constraints of discrete lattice. Using current assumptions, the model faces principal difficulties in obtaining the step size value that is equal to experimental. Possible solution is consideration of more complicated structure of contractile system, other assumptions about the mechanism of force generation by single cross-bridge and its interaction with actin.

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 cross-bridges distributions during the simulation of step and sinusoidal length perturbations, showed that the exponential processes (A), (B) and (C) are related to recovery of a disturbed edge areas of cross-bridges distributions. Static and dynamic parameters are determined by geometrical and dynamic parameters of the edge areas. Characteristic velocity of the exponential processes is determined by characteristic recovery velocity of corresponding perturbed edge region. Initial magnitude is determined by the location of the edge regions along the axis of deformation and the area under distribution curve in that region. Direction of exponential process is determined by whether the edge is right or left as well as in which range of deformations it is (positive or negative). The right edges will create an exponential process whose sign coincides with the sign of the length changes. In contrast, the left edges of the strong bounded cross-bridges distributions will invert the sign of the input signal. There is thus that processes (A) and (C) may result from the recovery of the right-hand edges of the cross-bridges distributions, which have a corresponding characteristic recovery rate; process (B) – from the left-hand edges of the strongly bound cross-bridge distribution. The importance of the spatial constraints in the implementation of the mechanism of the observed viscoelastic properties was shown. The possibility of implementing the scheme of correspondence of the exponential processes to certain stages of cross-bridge mechanochemical cycle proposed in the paper [7] is considered.

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

Список опублікованих праць за темою дисертації

Статті у наукових фахових виданнях:

1. 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)
2. Мищенко А.М., Беспалова С.В. Моделирование частотных характеристик мышцы с использованием непрерывной пространственно распределенной

моделі. *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)

3. 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)
4. Міщенко 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)
5. 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)

Тези наукових доповідей:

6. Беспалова С.В., Міщенко 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., Міщенко 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., Міщенко А.М. *Механо-кінетическа 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. Міщенко 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.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	15
ВСТУП.....	16
РОЗДІЛ 1. Огляд літератури	26
1.1. Механічні властивості скорочувальних філаментів	26
1.1.1. Вимірювання жорсткості скорочувальних філаментів.....	26
1.1.2. Фізіологічне значення жорсткості скорочувальних філаментів.....	30
1.2. Механіка розтягування м'язу	37
1.3. Просторова структура ґратки саркомеру	44
1.3.1. Скорочувальні філаменти	44
1.3.2. Ґратка А-смуги.....	45
1.3.3. Роль структури ґратки саркомеру в роботі скорочувального апарату, експериментальні та теоретичні відомості	46
1.4. В'язкопружні властивості активного м'язового волокна.....	51
1.4.1. Східчасті зміни довжини	51
1.4.2. Гармонійні зміни довжини	52
1.4.3. Природа в'язкопружних властивостей.....	58
РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи	64
2.1. Просторово розподілена стохастична модель півсаркомеру, що враховує еластичність скорочувальних філаментів.....	64
2.2. Детерміністична апроксимація просторово розподіленої стохастичної моделі півсаркомеру	67
РОЗДІЛ 3. Просторово розподілена стохастична модель півсаркомеру що враховує еластичність скорочувальних філаментів.....	70
3.1. Основні положення моделі.....	72
3.2. Вибір параметрів моделі	77
3.3. Обчислювальні експерименти та обробка їх результатів.....	79
РОЗДІЛ 4. Вплив еластичності скорочувальних філаментів на роботу півсаркомеру в стаціонарних та нестаціонарних режимах	83
4.1. Ізотонічне розтягування та скорочення, залежність сила-швидкість.	83
4.2. Ізометричний режим	111

4.3.	Силовий відгук на ізокінетичне розтягування.	113
4.4.	Висновки до розділу	118
РОЗДІЛ 5. Синхронізація роботи поперечних містків в дискретній ґратці філаментів		121
5.1.1.	Східчасті траєкторії ковзання півсаркомеру	122
5.1.2.	Дискретність набору деформацій	125
5.1.3.	Молекулярний механізм формування великомасштабних сходинок.	130
5.2.	Висновки до розділу	137
РОЗДІЛ 6. Детерміністична просторово розподілена модель саркомеру з дискретною ґраткою.....		139
6.1.	Просторово розподілена стохастична модель пари скорочувальних філаментів	141
6.2.	Детерміністична апроксимація	145
6.3.	Апроксимація рішень моделі що заснована на формалізмі Хакслі.....	150
6.4.	Ізотонічний відгук на східчасті зміни сили	151
6.4.1.	Параметри симуляції.	151
6.4.2.	Результати симуляції.....	152
6.4.3.	Механізм східчастого ковзання	155
6.4.4.	Порівняння з експериментом.	159
6.5.	Апроксимація чисельних рішень моделі, побудованої в рамках формалізму Хакслі.	160
6.6.	Висновки до розділу	161
РОЗДІЛ 7. Природа в'язкопружних властивостей активного м'язового волокна		164
7.1.	Модель	166
7.2.	Результати оптимізації	168
7.3.	Молекулярний механізм перехідних і частотних характеристик	172
7.3.1.	Відповідність хімічних станів поперечних містків перехідним процесам..	172
7.3.2.	Зв'язок між динамікою розподілів поперечних містків та силою півсаркомеру при східчастих та гармонійних змінах довжини.....	177
7.3.3.	Обговорення результатів.	190
7.4.	Висновки до розділу	200
ВИСНОВКИ.....		203

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	205
ДОДАТКИ.....	223

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ПМ – поперечний місток

ДІ – довірчий інтервал

ЗДР – звичайні диференційні рівняння

СДР – стохастичні диференційні рівняння

ДРЧП – диференційні рівняння в частинних похідних

АФЧХ – амплітудно-фазова частотна характеристика

ФЧХ – фазо-частотна характеристика

АЧХ – амплітудно-частотна характеристика

ВСТУП

Актуальність теми. Вивчення молекулярного механізму м'язового скорочення є однією з фундаментальних проблем біофізики, яке також має і важливе прикладне значення. Механіка роботи м'язу вивчається від рівня м'язового волокна до рівня окремого півсаркомеру чи, навіть, окремої молекули міозинового мотору. Існує багато відомостей стосовно структури саркомеру та його компонентів на мікро, ультра, нано та атомарному рівнях, також вивчаються механічні властивості окремих компонентів (скорочувальні білки, тітін). Так само дослідження кінетичного циклу міозину починаються з біохімічних досліджень розчину молекул та доходять до досліджень на окремих молекулах. Не дивлячись на значні успіхи в такому різноплановому дослідженні м'язового скорочення, на сьогоднішній день залишається незрозумілою природа на молекулярному рівні деяких важливих аспектів закономірності роботи м'язів. Серед іншого можна згадати таке:

- розуміння молекулярної основи залежності між силою та швидкістю роботи м'язового волокна;
- молекулярна природа розвитку сили при розтягуванні м'язового волокна (збільшення сили при та після розтягування);
- молекулярна природа в'язкопружних властивостей активного м'язового волокна, природа осциляторної роботи м'язу;
- автоколивальна та стрибкоподібна динаміка скорочення;
- молекулярна природа деяких хвороб м'язів, пов'язаних з мутаціями міозину.

Проблеми в розумінні молекулярного механізму, в першу чергу, пов'язані з його емерджентним характером. М'язове скорочення виникає як результат колективної роботи більйонів молекул міозину, що циклічно взаємодіють з молекулами актину. Механохімічні властивості молекул міозину є важливим, але не єдиним чинником, що визначає спостережувані властивості м'язового волокна. Так, молекули міозину є частиною складної тривимірної квазікристалічної структури саркомеру; обмежуючи просторове розташування молекул міозину та актину, вона модулює їх взаємодію. Ця структура, механічно поєднуючи містки між собою,

опосередковує їх взаємодію між собою, призводить до появи кооперативних ефектів в їх роботі. Опосередковано на фізіологічну важливість структури саркомеру вказує те, що вона змінюється в онто- та філогенезі. Завдяки наявності еластичності у скорочувальних філаментів, структура саркомеру не є жорсткою і може зазнавати певних змін навіть під час роботи м'язового волокна.

Яку роль відіграє просторова структура саркомеру в роботі м'язового волокна, яким чином її особливості впливають на функціонування множини міозинових моторів, обумовлюють кооперативність їхньої роботи? Яке значення відіграє наявність еластичності в цій структурі, чи впливає вона на процес роботи міозинових моторів, яким чином необхідно враховувати її при інтерпретації експериментальних результатів? Дотепер залишається багато нерозв'язаних питань стосовно біофізичних механізмів ролі структури саркомеру в процесі роботи м'язу. Дослідження, що описані в цій роботі, в тому числі, мають на меті допомогти встановити цю роль.

Головною проблемою при експериментальному дослідженні молекулярного механізму є реєстрація колективної роботи множини міозинових моторів в нативній структурі саркомеру. На сьогоднішній день це складно досягти, використовуючи існуючі експериментальні методики. З урахуванням наявності різноманітної інформації, що стосується властивостей окремих компонент саркомеру, перспективним рішенням описаної проблеми є комп'ютерне моделювання. Модель, на відміну від експерименту, дає можливість відслідкувати мікроскопічний стан системи. Ще однією перевагою моделі перед експериментом є можливість змінювати систему, що моделюється, таким чином з'ясовуючи функціональну роль тих чи інших параметрів цієї системи. У зв'язку із появою потужних комп'ютерів широке розповсюдження отримали просторово розподілені стохастичні моделі [8-10], що використовують Монте-Карло симуляцію. Моделі такого типу зберігають інформацію про особливості геометрії ґратки саркомеру, дозволяють явним чином врахувати еластичність скорочувальних філаментів [9], деталізують стан скорочувальної системи до рівня механохімічного стану окремих поперечних містків.

В нашій роботі ми використовували моделі двох типів. По-перше, ми використали підхід [9], що дозволяє врахувати в просторово розподіленій моделі наявність еластичності скорочувальних філаментів. Потреба врахування в моделях еластичність скорочувальних філаментів виникла у зв'язку з експериментальним відкриттям її наявності [11-13]. Експериментально була показана наявність деформацій філаментів в ізометричному режимі, а також при ізотонічному розтягуванні м'язового волокна. Відповідно до [11-13], близько 50% еластичності саркомеру може приходиться на скорочувальні філаменти. Отримані в роботі [9] залежності констант швидкостей механохімічного циклу поперечних містків від деформації не дозволяють достатньо точно відтворити експериментальні закономірності механіки розтягування м'язового волокна. Ми спробували створити модель, яка б більш адекватно відтворювала механічні закономірності як скорочення, так і розтягування в ізотонічному та ізокінетичному режимах. Опису та розробці такої моделі присвячений розділ 2.

Ще один підхід, який був використаний нами для побудови ряду моделей, описаний в розділі 5. Стохастична модель, що використовує метод Монте-Карло, має свої недоліки. Така модель може потребувати значних обчислювальних ресурсів. Те, що модель оперує випадковими реалізаціями, може створювати певні проблеми при параметричній ідентифікації моделі, аналізі її чутливості чи при аналізі результатів моделі. То ж, бажаним є побудова моделі, яка дозволила б пришвидшити симуляцію та оперувала б середніми; одночасно ця модель має враховувати інформацію про структуру ґратки саркомеру. В розділі 5 запропонована детерміністична апроксимація стохастичної просторово розподіленої моделі, в якій розглядається взаємодія пара жорстких скорочувальних філаментів. Підґрунтям для її створення була дискретність відстаней між поперечними містками та зв'язувальним центрами в стохастичній моделі, завдяки чому поперечні містки можна розділити на групи за їх деформацією та розглядати стан кожної статистично, використовуючи звичайні диференціальні рівняння (ЗДР). Перевагою детерміністичної процедури є те, що вона потребує менших обчислювальних ресурсів, оперує середніми.

Експериментальні та теоретичні дослідження показують наявність впливу еластичності скорочувальних філаментів на фізіологічні функції м'язових волокон [9, 14-19]. Також цей факт істотно змінив методику інтерпретації механічних експериментів [19, 20]. Правильна інтерпретація результатів експерименту потребує розуміння механізму впливу еластичності філаментів на спостережувані властивості. Механізм впливу еластичності скорочувальних філаментів на механіку роботи скорочувального апарату залишається предметом досліджень. В теоретичній роботі [9] був показаний вплив еластичності скорочувальних філаментів на генерацію півсаркомером сили при ковзанні з різною швидкістю при східчастій зміні довжини. Було показано, що цей вплив може опосередковуватися змінами циклічної взаємодії поперечних містків з актином, які виникають внаслідок деформацій еластичних скорочувальних філаментів, що локально міняють просторову структуру ґратки філаментів. В розділі 3, використовуючи просторово розподілену стохастичну модель, яка на відміну від [9] дозволяє більш точно відтворити експериментальну механіку розтягування м'язового волокна, ми розглянемо, як еластичність може впливати на роботу саркомеру в ізотонічному, ізометричному та ізокінетичному режимах. Зокрема, розглянемо, як еластичність впливає на залежність сила-швидкість, розвиток сили в ізометричному режимі, динаміку силового відгуку на розтягування з постійною швидкістю. Детально проаналізуємо механізм цього впливу, яку роль в цьому механізмі відіграє просторова структура саркомеру та її локальні деформації.

Тривимірна структура ґратки саркомеру визначає просторове розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів, це модулює їхню взаємодію, створює колективні ефекти в роботі поперечних містків. Вважається, наприклад, що такі колективні ефекти можуть лежати в основі осциляторної або східчастої динаміки скорочення, яку спостерігають експериментально. Осциляторна динаміка спостерігається на рівні м'язових волокон [2] після східчастих змін сили в ізотонічних умовах. Стрибкоподібна динаміка ковзання спостерігається на рівні окремих міофіламентів, саркомерів або пари скорочувальних філаментів [4]. Припускається, що така динаміка може бути пов'язана зі структурними

обмеженнями, що їх накладає ґратка філаментів на взаємодію між міозином та актином. Опосередковано на це вказує кількісний зв'язок між параметрами такої динаміки та геометричними параметрами ґратки (величина сходинок кратна 2.7 нм, це значення співпадає з періодичністю розташування актинових мономерів вздовж тонкого філаменту). Однак механізм цього явища та роль структури саркомеру в ньому залишаються нез'ясованими. Осциляторний режим роботи також було отримано в ряді теоретичних робіт, які використовували дискретну ґратку [21-23]. В цих роботах показано, що така механіка може бути пов'язана кооперативними ефектами, які виникають в роботі сукупності поперечних містків. Ці кооперативні ефекти пов'язані з механічною сполученістю містків саркомеру між собою, яка дозволяє впливати їм один на одного в їх здатності взаємодіяти з актином. Припускалось, що осциляторна динаміка, отримана в моделях, є аналогічною до спостережуваної експериментально. Серед недоліків згаданих робіт можна зазначити: 1) відсутність аналізу можливої ролі дискретності ґратки філаментів як фактору, що модулює актоміозинові взаємодії в механізмі синхронізації роботи поперечних містків; 2) відсутність кількісного збігу величини сходинок з експериментальним значенням, а також відсутність кількісного пояснення зв'язку між параметрами східчастого руху та геометричними параметрами ґратки саркомеру; 3) відсутність механізму утворення сходинок, величина яких є в декілька разів більшою, ніж величина елементарної сходинки (2.7 нм).

В розділах 4 та 5, використовуючи стохастичну та детерміністичну просторово розподілені моделі, ми розглянемо явище східчастого ковзання в ізотонічному режимі. Кількісно порівняємо з експериментом результати моделі. Проаналізуємо механізм цього явища та роль просторової структури ґратки саркомеру, її дискретності. Знайдемо кількісний зв'язок між геометричними параметрами ґратки саркомеру та параметрами стрибкоподібного руху. Розглянемо механізм формування сходинок з величиною, що в декілька разів є більшою за елементарну. Нарешті, розглянемо правомірність ототожнення стрибкоподібного руху, що спостерігається в експерименті та в моделі.

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. З одного боку, ці властивості відображають низку важливих фізіологічних властивостей м'яза, в тому числі його здатність працювати в осциляторному режимі. З другого боку, вважається, що параметри в'язкопружних властивостей безпосередньо відображають параметри мікроскопічного рівня, що характеризують роботу міозинових моторів. В'язкопружні властивості залежать від механічних властивостей поперечних містків, від кінетики їх взаємодій з актином, від сполучення цих взаємодій з процесом генерації сили. Корисність цього методу залежить від правильності інтерпретації його результатів. В літературі точаться дискусії стосовно молекулярної природи параметрів в'язкопружних властивостей; з якими етапами механохімічного циклу вони пов'язані, яким чином збурення довжини саркомеру породжують на молекулярному рівні спостережувані на макроскопічному рівні зміни сили. В роботах Kawai [7] на основі вивчення залежності частотних характеристик від концентрації MgATФ, MgADФ та Фн трьом експоненційним процесам (А), (В) та (С), що формують три фази силового відгуку активного м'язового волокна на східчасті зміни довжини, були співставлені певні переходи в механохімічному циклі. При цьому інтерпретація спостережуваних закономірностей здійснювалась в рамках точкової кінетичної моделі. Без урахування просторової складової така модель не дає конкретного механізму змін сили, що виникають при змінах довжини.

В розділі 6, використовуючи методи багатомірної оптимізації, ми спробували реалізувати механізм, запропонований в [7], в просторово розподіленій моделі, в якій константи швидкостей кінетичного циклу залежали б від деформації еластичного елемента поперечного містка. Отримавши модель, яка відтворює в'язкопружні характеристики, в її рамках можна з'ясувати, які зміни в активності ансамблю поперечних містків викликають збурення довжини, та яким чином вони породжують спостережувані експоненційні процеси, з'ясувати походження їх параметрів на мікроскопічному рівні, розглянути роль просторової складової в

механізмі формування експоненційних процесів. Зробити узагальнення стосовно того, яку роль відіграє просторова складова в молекулярному механізмі в'язкопружних властивостей, які обмеження її врахування накладає на можливі сценарії цього механізму.

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 сходінок 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 змінами 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 змінами 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 сходинок 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 (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.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Механічні властивості скорочувальних філаментів

Раніше вважалося, що скорочувальні філаменти мають жорсткість значно більшу за сумарну жорсткість зв'язаних поперечних містків [24], таким чином їх жорсткість та можливі деформації були виключені з експериментального та теоретичного аналізу механіки м'язового скорочення. Однак в роботах [11-13], що використовували низько кутову рентгенівську дифракцію, було показано, що товсті та тонкі філаменти насправді є еластичними. Відповідно до [11-13], близько 70% еластичності саркомеру може приходиться на скорочувальні філаменти. Відкриття цього факту призвело до перегляду інтерпретації багатьох отриманих раніше експериментальних результатів з дослідження механіки м'язового скорочення. Далі ми детально розглянемо наявні експериментальні відомості про величину еластичності скорочувальних філаментів, а також її фізіологічне значення.

1.1.1. Вимірювання жорсткості скорочувальних філаментів.

Вимірювання жорсткості здійснювалося різними експериментальними методами, на різних препаратах. В роботі [11] з використанням методів низькокутової рентгенівської дифракції м'язів жаби було встановлено, що зсув на мономер в актиновому філаменті (2.75 нм) в м'язі, що скорочується ізометрично, збільшується в середньому на $0.31 \pm 0.03\%$, порівняно з розслабленим м'язом. Зсув на мономер в товстому філаменті (14.3 нм), за таких же умов, збільшується на 1.5%. Вказується, що значення деформації для товстого філаменту може бути завищеним (це значення оцінювалось на основі зміщення меридіональних рефлексів, що відповідають періоду 14.3 нм), воно частково може походити від інших факторів, ніж деформація філаменту під впливом напруги (активація філаменту). За оцінками, зробленими в [11], модулі пружності актинового та міозинового філаменту складають відповідно $2.5 \cdot 10^9$ Н/м² та $1 \cdot 10^9$ Н/м². (їхні діаметри становлять ~8 та 13 нм відповідно).

В [12] також використовували метод низькокутової рентгенівської дифракції м'язів жаби (*Rana catesbeiana*). Було встановлено, що зсув на мономер в актиновому

філаменті в м'язі, що скорочується ізометрично, збільшується в середньому на 0.25% (ця величина є середнім, по всіх періодах, всіх філаментів саркомеру) при повному перекритті ниток актину і міозину і на $\sim 0.3\%$ (масштабоване до повної ізометричної сили) при половинному перекритті. В цілому довжина актинового філаменту при ізометричному скороченні збільшується на 3-4 нм. Аксіальна періодичність 42.9 нм міозину при ізометричному скороченні збільшувалась на $\sim 1.2\%$ (при повному перекритті) та на $\sim 1\%$ при половинному (масштабоване до повної ізометричної сили), ця оцінка може бути завищеною (зміна положення рефлексу може бути частково спричинена, зміною положень містків під час активації). Для уточнення цього значення також вимірювали деформацію міозину під час розтягування м'яза, що ізометрично скорочується (вплив процесу активації виключається), періодичність міозину в середньому збільшувалась на 0.26% (масштабоване до повної ізометричної сили). В такому випадку подовження товстого філаменту ($\sim 1.6\mu\text{м}$) становить ~ 2.1 нм на півсаркомер. Схожість значень деформацій міозину та актину вказує на те, що міозин вдвічі жорсткіший за актин. Значна частина ($\sim 70\%$) еластичності активного м'язу обумовлена еластичністю актинових (42%) і міозинових (27%) філаментів.

В роботі [25] методом рентгенівської дифракції вивчали літальні м'язи живої мушки *Drosophila*. Під час кожного змаху крил деформація остову товстих філаментів складала $\sim 0.2\%$ (рефлекси лінії 7.2 нм).

В роботі [26] методом рентгенівської дифракції вивчали скелетні м'язи жаби. Деформація актину та міозину в ізометричному режимі складала $\sim 0.36\%$ (при довжині 1 мкм це дасть деформацію ~ 3.6 нм) та $\sim 0.43\%$ (при довжині 0.8 мкм це дасть деформацію ~ 3.4 нм) відповідно. При силі в півсаркомері на тонкий та товстий філаменти ~ 160 пН та ~ 280 пН відповідно, їхня жорсткість складе ~ 45 пН/нм та ~ 80 пН/нм відповідно.

Залежність деформація-сила [27], що була отримана для реконструйованих товстих філаментів з використанням нанокантеліверів, показує, що при фізіологічних навантаженнях ($\sim 240-440$ пН) філаменти довшають на $\sim 1.1-1.5\%$. Ці результати узгоджуються з вимірюваннями деформацій міозину рентгенівською

дифракцією [11, 28], з урахуванням того, що в саркомері напруга буде неоднорідною вздовж товстого філаменту. Нативні товсті філаменти моллюска (*Mytilus edulis*) та мечохвосту (*Limulus polyphemus*) значно більш еластичніші [29]. При фізіологічних напруженнях (~1-10 нН), характерних для цих тварин, вони довшали на ~23% (мідія) та ~66% (краб) від початкової довжини філаменту. Деформації мали оборотний характер. Висока еластичність цих філаментів може бути пов'язана з наявністю в їхньому складі великої кількості білку параміозину.

Вимірювання з використанням нанокантеліверів F-актину [30] показали, що його жорсткість (34.5 ± 3.5 пН/нм, для 1мкм F-актину, в області навантажень ~50–230пН) приблизно вдвічі менша за жорсткість тонких філаментів, що вимірювалась в рентгеноструктурних дослідженнях. За оцінками [30], жорсткість тонкого філаменту буде приблизно на 50-60% більшою за жорсткість F-актину (завдяки наявності тропоміозину, нібуліну). В такому випадку, масштабуючи жорсткість F-актину до жорсткості тонкого філаменту, отримаємо жорсткість ~51–55 пН/нм при розтягуванні (з урахуванням наявності гістерезису на кривій деформація-сила) та ~60–70пН/нм при скороченні, середнє ~60пН/нм. Для 1мкм тонкого філаменту при ізометричній силі (максимальне значення 230пН) його подовження складе $(230\text{пН} - 50\text{пН}) / 60\text{пН/нм} = 3\text{нм}$ (де 50 пН - значення сили при контурній довжині). Це значення відповідає значенню 0.3% в експериментах з рентгенівською дифракцією (~0.2–0.42%) [11, 12, 26, 31].

В роботі [32] оцінювалася еластичність актинових філаментів на основі вимірювання відносної еластичності скінованих м'язових волокон скелетного м'яза кролика в стані ригору з довжинами саркомеру від 1,8 до 2,4 мкм (зміна еластичності відбувається головним чином за рахунок зменшення довжини I-смуги). Еластичність тонких філаментів становить ~55% від загальної еластичності саркомеру. Екстраполяція цієї величини на ізометричний режим (еластичність саркомеру буде більшою в ~1,25 раз) дасть значення ~44%. (загальна деформація півсаркомеру 5.4 нм, деформація тонких філаментів I-смуги 2,4нм). Остання оцінка узгоджується з результатами вимірювання еластичності за допомогою рентгенівської дифракції.

В роботі [33] також визначали жорсткість тонких філаментів через вимірювання відносної жорсткості півсаркомеру м'язових волокон жаби (*Rana esculenta*, *tibialis anterior*) в ізометричному режимі і того ж волокна, але без сарколеми в стані ригору. Оцінки величини еластичності актинових філаментів на одиницю довжини дали значення $2,32 \pm 0,34$ нм мкм⁻¹/T₀⁻¹ (звідси оцінка жорсткості тонкого філаменту довжиною 1 мкм складе 45.7-67.6 пН/нм). В ізометричному режимі середня деформація актинового філаменту становить 0.15%. Відмінність від деформації, отриманої рентгеноструктурними методами [11, 12] (~ 0,26%), може бути пояснена більш високими температурами, при яких проводилися ці експерименти ([11] - 10-14°C, [12] - 8-10°C проти 4°C в цій роботі) і відповідно більшою ізометричною силою. Еластичність актинових філаментів становить 29±4% від повної еластичності півсаркомеру в ізометричному режимі і 44±7% в стані ригору. (Оцінка еластичності товстого філаменту 1.33 нм/мкм/T₀, міозин дає 11% від всієї еластичності півсаркомеру.)

Інші експерименти на м'язових волокнах жаби [34] також показали менший внесок еластичності міофіламентів в загальну еластичність саркомеру 30%, проти 50-70%, величини отриманої в дослідженнях [11, 12, 32]. Цю різницю можна пояснити, якщо врахувати нелінійність еластичності міофіламентів (при великих навантаженнях вони стають жорсткіші)

В роботі [35] з використанням скляних мікроголок вивчалася жорсткість окремих актинових філаментів з тропоміозином і без нього (штучно синтезовані філаменти, G-актин скелетних м'язів кролика). Жорсткість актинового філаменту 1 мкм завдовжки з тропоміозином і без нього склала $65,3 \pm 6,3$ та $43,7 \pm 4,6$ пН/нм відповідно. Якщо врахувати нерівномірність розподілу сили, діючої на актин, з боку зв'язаних поперечних містків в півсаркомері, деформація тонкого філаменту в ізометричному режимі довжиною 1 мкм складе $\approx 0.23\%$. Внесок актинового філаменту в загальну еластичність саркомеру буде складати $\approx 50\%$.

Узагальнюючи різні експериментальні данні можна сказати, що еластичність скорочувальних філаментів дає значний вклад в загальну еластичність півсаркомеру (40%-70%). Більшість вимірювань та оцінок, що

використовують різні методи та препарати, дають наступні значення жорсткості тонких філаментів: в ізометричному режимі його деформація складає 0.25-0.31% (при довжині філаменту 1мкм це дасть подовження 2.5-3 нм), жорсткість 1мкм філаменту складає 45-65 пН/нм, загальний вклад в еластичність саркомеру 42% - 50%. Жорсткість міозину приблизно в двічі більша за жорсткість тонких філаментів (можливо в тому числі завдяки більшому діаметру) в ізометричному режимі його деформація складає 0.26-0.46 (при довжині філаменту 0.8мкм це дасть подовження 2.1-3.7нм), жорсткість складає 80-140 пН/нм, загальний вклад в еластичність саркомеру 27%.

Деякі дослідження кажуть про те, що внесок філаментів в еластичність саркомеру може бути значно меншим (1-20%) [34, 36]. Однак в даних роботах обговорюються можливі причини відхилень від рентгеноструктурних досліджень.

Жорсткість філаментів значним чином залежить від білків, які зв'язані з актином та міозином. За відсутності тропоміозину жорсткість актину зменшується приблизно вдвічі. Структура товстих філаментів значним чином відрізняється у хребетних та безхребетних, це має значний вплив на їхню еластичність, у безхребетних їх еластичність може бути більшою на порядок (мідія, краб). В літальних м'язах товсті філаменти навпаки можуть бути жорсткішими.

1.1.2. Фізіологічне значення жорсткості скорочувальних філаментів.

Фізіологічну роль еластичності скорочувальних філаментів можна з'ясувати, змінюючи їх еластичність та спостерігаючи ефект на фізіологічному рівні. Наприклад, цього можна досягнути змінюючи білки чи їхню експресію, від яких залежить жорсткість філаментів. Приклад неміозинових білків, що впливають на еластичність товстих філаментів є білок МуВР-С, що входить до складу товстих філаментів серцевих м'язів, білки параміозин та флайтін, що входить до складу товстих філаментів м'язів комах. Відсутність експресії МуВР-С у мутантних ліній мишей, призводить до збільшення еластичності міокарду, що в свою чергу пов'язується зі збільшенням еластичності товстих філаментів [17]. На

фізіологічному рівні це приводить до аномально високої швидкості скорочення саркомерів, скорочення фази спорожнення [37]. Разом ці результати демонструють важливість ролі MyBP-C в модуляції роботи серцевого м'язу та серця і можливий механізм, пояснюючий, яким чином мутації MyBP-C можуть викликати спадкові кардіоміопатії.

Еластичність скорочувальних філаментів може відігравати важливу роль в створенні високої пасивної сили та механізмі активації розтягуванням літальних м'язів комах [14]. Ці м'язи характеризуються низькою ізометричною силою, високою пасивною жорсткістю (в тому числі визначається жорсткістю товстих філаментів та білків, що з'єднують товсті філаменти з Z-мембраною та з тонкими філаментами), чітко вираженою здатністю до активації розтягуванням. Мутації параміозину знижують жорсткість товстих філаментів, що впливає на здатність літати мушок *Drosophila* [14].

Відмінною рисою літальних м'язів комах є їхня жорсткість навіть в розслабленому стані, що може бути пов'язано з їх здатністю виконувати осциляторну роботу, наявністю у них активації розтягуванням [38]. У дрозофіл жорсткість товстих філаментів літальних м'язів та самих літальних м'язів залежать від білка флайтіну (*flightin*) у мутантних мушок, у яких не відбувається експресія флайтіну [39]; товсті філаменти є значно більше еластичними порівняно з диким типом [40]. Те саме спостерігається і на клітинному рівні за відсутності флайтіну: пасивна еластичність скінованих одиночних м'язові волокон стає більшою [15]. Також відбувається зміна активних в'язкопружних властивостей літальних м'язів [15]: зменшення експресії флайтіну призводить до зменшення амплітуд модуля пружності та модуля в'язкості на характерних частотах. Величина роботи, що створює літальний м'яз та здатність активуватись розтягуванням, визначається негативною амплітудою модуля в'язкості, мутантні мушки втрачають здатність літати. Ізометрична сила мутантних ліній та дикого типу відрізняються не сильно, що вказує на те, що у мутантних мушок змінюється передача сили від поперечних містків до Z-мембрани та тораксу [15].

Ситуацію, протилежну описаній вище, можна спостерігати при природньому старінні мушок *Drosophila* [16]. При старінні волокна літальних м'язів стають жорсткішими, вихідна потужність осциляторної роботи збільшується майже вдвічі, так само збільшується ізометрична сила. При всьому цьому продуктивність польоту знижується (припускається, що це результат нестачі АТФ внаслідок пошкодження мітохондрій). Збільшення ізометричної сили не є наслідком зміни кінетики (характерні частоти АФЧХ майже не змінюються). Потужність та сила мають збільшуватися завдяки чи збільшенню зв'язаних містків, чи сили на місток. Зменшення продуктивності польоту (старі особини взагалі можуть втрачати здатність літати) може бути результатом розузгодження резонансної системи м'яз-торахс-крило, зміни жорсткості м'язу теоретично мають змінювати власну частоту системи, але при цьому частота максимальної осциляторної потужності (кінетика) не міняється. Висувається гіпотеза про те, що збільшення жорсткості волокон може бути компенсаторним механізмом проти зменшення доступності АТФ.

В роботі [19] вивчався вплив деформацій міофіламентів на кінетику відновлення сили після східчастих скорочень в ізометричному режимі. Деформації міофіламентів зменшували, зменшуючи за допомогою N-бензил-p-толуолсульфонамідів кількість зв'язаних містків в ізометричному режимі. Деформації зменшувались від 3.54 нм (в контролі) до 0.5 нм (ізометрична сила T_0 зменшувалась до $0.15T_0$). Зі зменшенням деформацій швидкість відновлення сили ставала більшою. Висновок, що робиться: експерименти по східчастій зміні довжини не можуть використовуватись для прямої оцінки констант швидкостей переходів в механохімічному циклі містків, як це передбачалось з урахуванням припущення відсутності еластичності філаментів [41]. Зміни деформацій еластичних елементів містків не будуть дорівнювати змінам довжини півсаркомеру, оскільки останні не передаються на них безпосередньо, а через послідовну еластичність філаментів. Якщо після східчастого скорочення константи переходів, що відповідають за відновлення, у випадку еластичних філаментів вони мають збільшитися менше, ніж у випадку жорстких (завдяки зворотному напрямку зміни довжини, ходу містків). Теоретично подібні результати були отримані в роботі [18] з використанням

двохстадійної моделі Хакслі [24], з послідовною еластичністю. Було показано, що швидкість відновлення зменшується зі збільшенням величини послідовної еластичності.

Наведені факти свідчать про важливість еластичності скорочувальних філаментів в різних аспектах роботи м'язів та необхідність вивчення молекулярного механізму її участі в цих феноменах. Існують різні можливості, яким чином еластичність філаментів може визначати функціональні властивості м'язів.

- *Локальні деформації скорочувальних філаментів здатні впливати на кінетику взаємодії поперечних містків з актином та призводити до появи різноманітних кооперативних ефектів в популяції містків. Зміни кінетики можуть впливати на здатність генерувати напругу популяцією поперечних містків.*
- *Еластичність філаментів буде впливати на передачу напруги та деформації між поперечними містками та Z-мембраною, створюючи послідовну еластичність. Це може впливати на швидкість розвитку сили саркомером, має враховуватися при інтерпретації експериментів по східчастій зміні довжини.*
- *Еластичність філаментів модулює роботу м'язів. Параметри еластичності філаментів можуть бути еволюційно оптимізовані відповідно до фізіологічної функції, що виконує м'яз. Відхилення еластичності від цих значень (спадкові хвороби, вікові зміни, штучні мутації) може призводити до виникнення патологій чи, навпаки, їх цілеспрямована зміна може слугувати компенсаторним механізмом проти певного роду фізіологічних стресів (старіння).*
- *Еластичність скорочувальних філаментів може відігравати важливу роль в створенні високої пасивної сили та механізмів активації розтягуванням літальних м'язів комах, необхідних для їхньої функціонування в автоколивальній системі м'яз-торахс-крило. Від еластичності залежать пасивні та актинні в'язкопружні властивості літальних м'язових волокон, а також скорочувальні властивості. Причому, для здійснення польоту мають бути узгоджені параметри всіх компонентів резонансної системи, а не тільки м'язу.*

- *М'язи можуть використовуватись в організмі (стабілізація ходи, серцеві скорочення, політ комах) як еластичний елемент для збереження енергії. Принаймні, частина цієї енергії може зберігатися в скорочувальних філаментах.*

Вплив розтягливості скорочувальних філаментів також вивчався в ряді **теоретичних досліджень**. В роботі [42] теоретично, на основі модифікованої двохстадійної моделі Хакслі [24], в якій була явно врахована розтягливість скорочувальних філаментів, досліджувався вплив розтягливості філаментів на механіку роботи м'яза. В роботі [42] розглядався ізометричний режим, оскільки передбачалося, що в цьому режимі ефекти, пов'язані з розтягливістю філаментів, є значними. Було показано важливість впливу ефектів, пов'язаних з розтягливістю філаментів. Головним чинником цього впливу є наявність локальних відносних зміщень та швидкостей філаментів. Розтягливість філаментів впливає на механіку м'язового скорочення через наступні фактори: 1) відносне зміщення між двома філаментами не є однорідними вздовж зони перекриття, 2) середня деформація поперечних містків є нерівномірною вздовж зони перекриття, 3) навіть при постійній загальній довжині саркомеру присутні локальні швидкості скорочення, які зменшують силу нижче за рівень, який би спостерігався у випадку нерозтяжних філаментів. Було показано, що в скорочувальній системі з поперечними містками, що мають два хімічні стани (вільний та зв'язаний), наявність еластичності скорочувальних філаментів призводить до появи наступних її характеристик: 1) В фазі зростання сили в ізометричному режимі спостерігається відставання сили від жорсткості. Така поведінка узгоджується з експериментальними спостереженнями [43]. Наявність еластичності дозволяє пояснити експериментальні результати без введення в механохімічний цикл поперечних містків слабо зв'язаного стану. В моделі Хакслі [24], на відміну від експериментальних даних, сила випереджає жорсткість. Для того, аби модель Хакслі коректно відтворювала результати експерименту, необхідно зробити припущення про наявність станів в механохімічному циклі поперечного містка, в яких він є зв'язаним, але не генерує силу (слабо зв'язаний стан) [41, 44, 45]. В цьому випадку, хоча сила відстає і відстає від жорсткості, але запізнювання сили кількісно є занадто коротким [42]. Для

збільшення цього часу було запропоновано ввести більш довготривалий слабозв'язаний стан [43]. На відміну від цього, в [42] пропонується альтернативний механізм, який не потребує введення слабо зв'язаного стану (хоча й не виключає його наявності). Відповідно до цього механізму запізнювання сили є результатом наявності еластичності скорочувальна філаментів. Наявність еластичності призводить до того, що скорочувальна система, що знаходиться в цілому в ізометричних умовах, локально не є ізометричною, наявні локальні швидкості переміщення філаментів будуть зменшувати силу порівняно з випадком, коли філаменти є жорсткими. Локальні швидкості скорочення філаментів можуть справляти значний вплив на кінетику поперечних містків. Ці швидкості складають всього два відсотки від максимальної швидкості скорочення, відповідно до експериментальної залежності Хілла сила-швидкість, такі швидкості мали б справляти дуже незначний вплив на силу. Однак в роботі [42] зазначається, що в даному випадку є некоректним оцінювати їх вплив на основі залежності сила-швидкість, оскільки ця залежність отримується в стаціонарних умовах (коли розподіл $n(t, x)$ поперечних містків по їх деформаціях набирають стаціонарної форми). В нестаціонарних умовах зростання ізометричній сили розподіли поперечних містків будуть зміщені в зону більших x (оскільки константа швидкості зв'язування є зростаючою функцією x). Наявність локальних швидкостей скорочення буде призводити до адвективного зміщення цих розподілів в напрямку $x=0$. Оскільки сила пропорційна першому моменту розподілу $n(t, x)$ (\sim середньому x), це зміщення буде призводити до істотного зменшення сили навіть у випадку незначних швидкостей скорочення. З другого боку, це зміщення не буде впливати на жорсткість, оскільки жорсткість є пропорційною нульовому моменту розподілу (\sim площині під розподілом).

2) Жорсткість скорочувальної системи нелінійно залежить від кількості зв'язаних поперечних містків: для цієї залежності жорсткість зростає значно повільніше за зростання кількості поперечних містків. Загальна жорсткість є меншою більш ніж на 60% порівняно з скорочувальною системою, в якій філаменти є не розтяжними. Ступінь дисоціації жорсткості від кількості

зв'язаних поперечних містків в стаціонарному режимі залежить від форми розподілу зв'язаних поперечних містків, яка в свою чергу залежить від експериментального протоколу (наприклад, збільшення сили, починаючи від розслабленого стану або відновлення сили після малих швидких змін довжини). 3) У випадку скорочувальної системи з еластичними скорочувальними філаментами містки не є незалежними генераторами сили. Локальна поведінка однієї міозинової головки має залежати від стану сусідніх. Сполучення відбувається виключно через локальні швидкості ковзання.

В роботі [9] була запропонована просторово розподілена механохімічна модель скорочення скелетного м'язу, яка дозволяє явним чином враховувати наявність еластичності скорочувальних філаментів. Модель враховує розташування всіх зв'язувальних центрів та поперечних містків. Скорочувальна система складається з двох філаментів (один тонкий та товстий). Механохімічний цикл поперечного містка мав три стадії. Хімічні переходи окремих містків симулювались за допомогою методу Монте-Карло. Розглядався вплив розтягливості філаментів на механіку роботи м'язу в стаціонарних (ізометричне скорочення, залежність сила-швидкість отримана в із кінетичному режимі) та перехідних режимах (силовий відгук на східчасті зміни довжини). Результати просторово розподіленої моделі порівнювались з результатами трьохстадійної моделі, що була побудована в рамках класичного формалізму Хакслі [24].

Був показаний значний вплив на механіку скорочення у цих режимах. Основний фактор, що визначає цей вплив - це наявність локальних деформацій еластичних скорочувальних філаментів. Ці деформації призводять до перерозподілу положень поперечних містків та зв'язуванні центрів, тим самим впливаючи на кінетику зв'язування та відривів поперечних містків (механохімічні переходи залежить від локальних деформацій поперечних містків). Причому, деформації тонкого філаменту в ізометричний режимі носять нерівномірний східчастий характер. Така нерівномірність обумовлена дискретним характером розташування поперечних містків.

Перерозподіл положень зв'язувальних центрів та містків лежить в основі наступних спостережуваних феноменів:

1) У ізометричному режимі наявність еластичності філаментів призводить до збільшення імовірності зв'язування та збільшення ізометрична сили. В розслабленому стані тільки незначна частка поперечних містків знаходиться в межах 2 нм від зв'язувальних центрів. Коли містки починають зв'язуватися, вони деформують філаменти, що робить доступним для зв'язування центри, які були до цього недоступними для інших поперечних містків.

2) Для залежності сила-швидкість еластичність філаментів призводить до збільшення сили при малих швидкостях скорочення та зміни кривизни цієї залежності (в роботі [9] стверджується, що така зміна кривизни є аналогічною до спостережуваної експериментально, [46] – «подвійна гіпербола»). Сила також збільшується при активному розтягуванні. Описаний ефект збільшується при збільшенні еластичності філаментів.

3) Швидка фаза відновлення сили при східчастому скороченні пов'язана з 25% збільшенням фракції зв'язаних поперечних містків, яке відбувається завдяки перерозподілу розташувань зв'язувальних центрів.

1.2. Механіка розтягування м'язу

Збільшення сили при розтяганні. Поперечносмугастий м'яз, що перебуває на плато тетанусу, у відповідь на його розтягування зі сталою швидкістю, відповідає різким збільшенням сили, це так званий феномен "збільшення сили при розтяганні" [1, 47-50], збільшення сили не супроводжується збільшенням гідролізу АТФ [51-53]. В цьому феномені проявляється гальмівна дія м'язу, він генерує значну силу супротиву малим метаболічним коштам. Силовий відгук складається із двох фаз: початкова фаза швидкого росту сили (фаза I), яка змінюється фазою повільного росту сили (фаза II), коли сила мінюється повільно (якщо м'яз розтягнутий за його оптимальну довжину), або виходить на плато. Перехід між фазами відбувається після розтягування саркомеру до певної критичної довжини (L_c), див. рис. 1.1. Довжина L_c не залежить від швидкості розтягування і складає 10-14нм на

півсаркомер (контроль довжини саркомеру, м'язове волокно жаби) [47], 7.7 ± 0.1 нм на півсаркомер (контроль довжини саркомеру, м'язове волокно кролика) [1], за відсутності контролю довжини саркомеру отримують більші значення 14-28 нм на півсаркомер; в експериментах на міофібрилах кролика 8.4 нм на півсаркомер [48]. Сила при критичній довжині (критична сила P_c) швидко зростає зі збільшенням швидкості розтягування та виходить на плато. Залежність P_c від швидкості розтягування - це добре відома "негативна" (ексцентрична) частина залежності сила-швидкість м'яза [46, 54].

В роботі [47] плато P_c складало $1.9-2 P_0$ (P_0 – ізометрична сила), а в роботі [48] – $2 P_0$, в роботі [55] – $1.5-2P_0$. Загалом значення $P_c \approx 2P_0$, характерно для м'язових волокон жаб, незалежно від швидкості 0.5-1 мкм/с на півсаркомер. Аналогічні значення були отримані і для м'язових волокон кролика при 15°C [50].

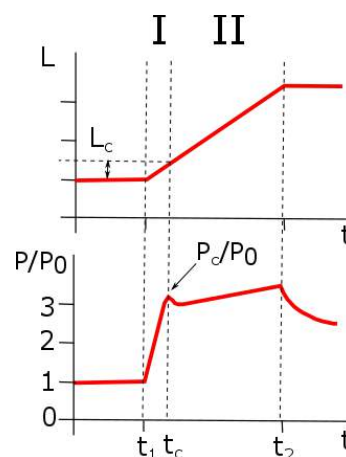


Рис. 1.1. Ілюстрація силового відгуку м'язового волокна на ізокінетичне розтягування. L – зміни довжини півсаркомеру, P – напружка, P_0 – ізометрична напружка. Фази експерименту: $t < t_1$, $t > t_2$ – ізометричний режим; $t_1 < t < t_2$ – розтягування. Фази силового відгуку: $t_1 < t < t_c$ – фаза I, $t_c < t < t_2$ – фаза II.

В роботі [1] для м'язових волокон кролика при 10°C P_c зростала при збільшенні швидкості розтягування до значення $1 L_0/c$ (L_0 – початкова довжина саркомеру), при подальшому збільшенні P_c виходило на плато $3.26 \pm 0.06 P_0$ (P_0 – ізометрична сила). Таки високі значення P_c можуть бути результатом відмінностей температури, концентрації фосфату та іонної сили в експерименті [1].

При великих швидкостях розтягування між фазами спостерігається пік сили: сила піднімається вище рівня плато фази 2, а потім спадає до рівня плато [47]. Перехід між двома фазами найбільш чітко виражений при швидкостях розтягування $\sim 1L_0/c$ (L_0 – початкова довжина саркомеру, 2.0-2.4 мкм).

Збільшення сили після розтягання. Якщо, по закінченні розтягування, м'яз знову помістити в ізометричні умови, буде відбуватись поступове відновлення його сили до P_0 . Падіння сили можна описати сумою двох експонент [56]. Перша, рання компонента, має константу швидкості $\sim 200c^{-1}$, константа швидкості другої (виникає при розтягуванні до перекриття більше оптимальної довжини) принаймні на порядок повільніша. Другу, довготривалу, компоненту називають "збільшення сили після розтягання".

Походження L_c . Наявність двох фаз в силовому відгуку та критичну довжину L_c пов'язують з наявністю критичної деформації еластичних елементів зв'язаних містків. Коли місткі досягають цієї критичної деформації, це призводить до різкого зростання швидкості їх відривів [1].

Походження зростання сили, релаксації сили. Жорсткість м'язового волокна, що вимірювалась на плато фази II, більше жорсткості в ізометричному режимі на 10-12% та практично не залежить від швидкості розтягування рис. 1.2, чим значно відрізняється від стаціонарної напруги в фазі II (при швидкості 0.2мкм/с на півсаркомер вона збільшується на $\approx 80\%$, при швидкості 1мкм/с на півсаркомер на $\approx 100\%$) [47] (м'язові волокна жаби). Відношення відносної напруги до відносної жорсткості зростають зі зростанням швидкості розтягання, досягаючи 1.85 при великих швидкостях, що каже про те, що: 1) збільшення стаціонарної сили при розтягуванні головним чином є наслідком збільшення деформації містків; 2) при розтягуванні кількість містків дещо збільшується, це збільшення не залежить від швидкості розтягування (0.025-1мкм/с на півсаркомер) [47]. Зауважимо, що наведені висновки були зроблені, виходячи з припущення, що жорсткість саркомеру повністю відповідає жорсткості зв'язаних містків. Також наведений діапазон

жорсткості (10-12%) був розрахований з урахуванням нелінійності жорсткості саркомеру, і іншому випадку цей інтервал буде становити 10-20%.

В роботі [57] за допомогою гармонійних змін довжини були отримані аналогічні [47] значення жорсткості. Уповільнення зростання жорсткості зі зростанням швидкості також спостерігається і при ізотонічному розтягуванні [58].

В роботі [55] (волокна жаби, контроль середньої довжини саркомерів) в ізометричному режимі, в ході фази II, та в ході релаксації напруги після розтягування був зроблений детальний аналіз силових відгуків на східчасті зміни довжини малої амплітуди. Залежність максимальної напруги (T_1) відгуку на східчасті зміни довжини від амплітуди кроку має більший кут нахилу в фазі II, ніж в ізометричному режимі на 20% (також зазначається, що це значення буде меншим 10-15%, коли нахили кривих порівнюються в діапазонах однакової напруги), що означає збільшення жорсткості півсаркомеру на ту саму величину. Цей кут нахилу не залежить від швидкості розтягування (0.02-1.6мкм/с на півсаркомер). Також з цієї кривої була отримана величина кроку скорочення, потрібного для досягнення нульової напруги (Y_0). При малих швидкостях розтягування (0.09мкм/с на півсаркомер, $P \approx 1.6P_0$), коли сила ще зростає зі швидкістю, приріст деформації містків відносно ізометричного рівня склав 1.3 нм на півсаркомер (4.1нм та 5.4нм на півсаркомер в ізометричному режимі та в фазі II відповідно). При великих швидкостях розтягування (0.8мкм/с на півсаркомер, $P \approx 1.9P_0$) відбувається подальше збільшення Y_0 в фазі II, приріст відносно ізометричного рівня складає 2.2нм (6.3нм на півсаркомер в фазі II). Зростання сили в фазі II - результат збільшення кількості містків та деформації зв'язаних містків, причому другий фактор дає більший вклад [55].

В роботі [1] також було отримане зростання жорсткості в фазі II, його приріст відносно ізометричного рівня (k_0) склав $15 \pm 3.5\%$; в роботі зауважується, що це значення може бути заниженим до 20%. Через 10 мс після розтягування жорсткість поверталась до ізометричного значення ($1.04 \pm 0.03k_0$), вона залишалась такою ж і через 50 мс ($1.081 \pm 0.04k_0$). Стосовно повільного росту сили в фазі II, а також піка сили між двома фазами, що іноді спостерігаються в експерименті ([47, 50, 59]).

Робиться припущення, що ці явища можуть залежати від способу приготування препарату, лежать за межами контрактильного апарату (наприклад на рівні міофібрили, є наслідком негомогенності довжин саркомерів [60]).

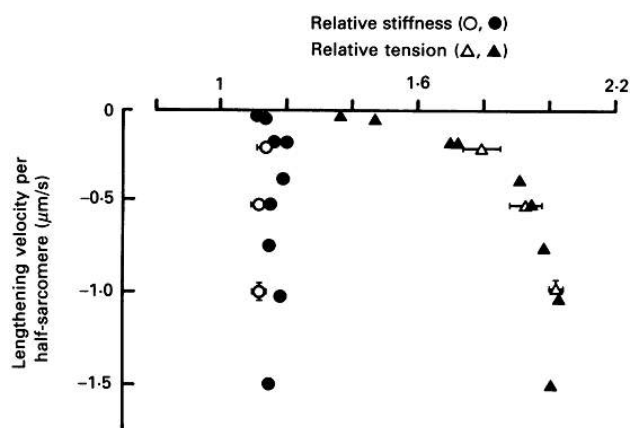


Рис. 1.2. Рис. 11 з [47]. Співвідношення між залежностями стаціонарної напруги в фазі II (трикутники) та жорсткістю, від швидкості розтягування. Напруга нормована до ізометричного значення, жорсткість до хордового значення жорсткості в ізометричному режимі (визначене з ізометричної кривої T_1 , для діапазону напруги, як напруга в фазі II). Закрашені та порожні символи – різні експериментальні умови.

Збільшення жорсткості без збільшення гідролізу АТФ може відбуватись завдяки збільшенню популяції слабозв'язаних містків [1]. Ці містки не генерують активної сили, але створюють силу супротиву при розтягуванні. При досягненні критичної деформації ці містки відриваються в вільний стан без відриву продуктів гідролізу, що робить можливим їх повторне зв'язування без гідролізу нової молекули АТФ. Сила другої фази підтримується завдяки балансу між швидкими відривами, розтягнутих до критичної деформації слабозв'язаних містків, та їх швидким перезв'язуваннями [1]. На підтвердження цієї гіпотези кажуть експерименти, в яких вивчали вплив на силу речовин, що змінюють заселеність популяції слабозв'язаних містків. Збільшення цієї популяції та зменшення популяції сильнозв'язаних містків зменшує ізометричну силу P_0 , але збільшує P_c/P_0 [1, 48].

Також існують дослідження, які вказують на те, що збільшення сили при розтягуванні відбувається не завдяки зростанню сили на місток, а завдяки

збільшенню кількості зв'язаних містків [61-63]; в цих роботах паралельно проводили механічні та рентгеноструктурні вимірювання на м'язових волокнах. В роботі [63] показано, що при розтягуванні $\sim 160\text{nm/s}$ ($P \approx 1.7P_0$ жорсткість збільшується) відносно ізометричного рівня до 1.25 та 1.12 відповідно, середня деформація містків не змінюється (2.32nm). Якщо виключити жорсткість міофіламентів, кількість містків при розтягуванні має зрости в 1.8 разів порівняно з ізометричним рівнем (фракція зв'язаних містків збільшується з 0.43 [33] в ізометричному режимі до 0.76 при розтягуванні, тобто на 77%). Передбачається, що критична довжина поперечних містків, після якої швидкість їх відривів різко збільшується, має складати 2-3nm. Швидка релаксація сили після розтягування відбувається завдяки зменшенню зв'язаних поперечних містків. Їх фракція швидко падає зі швидкістю $\approx 2.5\text{s}^{-1}$ до величини 0.61. Збільшення сили після розтягування, пояснюється наявністю додаткових (0.61-0.43) зв'язаних містків.

В роботі [61] збільшення сили пов'язується зі зв'язуванням другої голівки вже зв'язаних в ізометричному режимі поперечних містків.

В роботі [62] було показано, що збільшення жорсткості під час розтягування відбувається тільки в ізометричному режимі, в стані ригору такого не спостерігається, тобто збільшення жорсткості відбувається завдяки появі нових зв'язаних містків.

Теоретичне пояснення механіки розтягування. Модель Хакслі 1957 року добре описує концентричну частину залежності швидкість-сила. В ексцентричній частині, на відміну від експерименту, в цій моделі зі зростанням швидкості розтягування сила зменшується. Підігнати ексцентричну частину до експерименту можна зменшивши в моделі Хакслі швидкість відривання містків g [64]. Однак зменшення g призводить до появи містків з екстремально великою деформацією еластичного елемента. Якщо ж обмежити деформацію певним критичним значенням, це знову призводить до зменшення сили при збільшенні швидкості розтягування [65]. В цьому випадку, для збереження сили при високих швидкостях розтягування, потрібно збільшити константу швидкості зв'язування f [65]. Однак великі значення f не дозволяють відтворити в моделі Хакслі концентричну частину

залежності швидкість-сила. Велика швидкість зв'язування, що зберігає силу при великих швидкостях розтягування, також буде зберігати силу і при великій швидкості скорочення.

В роботах [47, 66, 67] розроблялися моделі, які адекватно описують механіку як скорочення, так і розтягування. В цих моделях швидкість зв'язування підвищується при розтягуванні, порівняно зі скороченням, завдяки наявності спеціального вільного стану містків, в який вони потрапляють тільки при відривах після розтягування. Швидке перев'язування з цього стану зберігає високий рівень сили при високих швидкостях розтягування. З другого боку, оскільки цей стан не є заселеним під час скорочення, сила та жорсткість м'язового волокна зменшуються зі збільшенням швидкості скорочення. Питанням, що залишається, є ідентифікація подібного вільного стану в механохімічному циклі реального містка. В роботі [68] також вводиться подібний вільний стан, також робиться припущення про його відповідність слабозв'язаному стану поперечних містків.

Інший підхід для вирішення проблеми відтворення механіки скорочення та розтягування запропонований в роботі [1]. Ключову роль в механіці розтягування відіграють слабозв'язані містки. Завдяки особливостям кінетики зв'язування та відривів містків в цьому стані, вони здатні створювати велику силу при розтягуванні та малу при скороченні (основне джерело сили при скороченні - містки в сильно-зв'язаному стані). Така роль слабозв'язаного стану в генерації сили при розтягуванні також підтверджується дослідженнями впливу ванадату на механіку скорочення та розтягування [1]. В [1] зроблено припущення, що існує певний діапазон деформацій, довкола рівноважної деформації для цього стану, де містки зв'язуються дуже швидко, а відриваються повільно. За межами цього діапазону відбуваються дуже швидкі відриви містків. Цей інтервал асиметричний відносно положення рівноваги, він є довшим в позитивному напрямку (розтягування). Завдяки цьому слабозв'язані містки під час розтягування утворюють стаціонарний розподіл з великою середньою деформацією містків. При скороченні середня деформація стаціонарного розподілу слабозв'язаних містків значно менша. В ізометричному стані стаціонарний розподіл приблизно симетричний відносно рівноважної деформації, сила, що генерується

слабозв'язаними містками, близька до нуля. Модель пояснює величину критичної довжини розтягування (≈ 8 нм, [1]) величиною позитивної частини інтервалу (ця довжина складає 4 нм, ще 4 нм виникають внаслідок розтягування послідовної еластичності міофіламентів). Модель містить тільки біохімічно ідентифіковані стани містків.

1.3. Просторова структура гратки саркомеру

Робота, що створюється м'язом, є результатом взаємодії поперечних містків товстих філаментів з актином тонких філаментів. Ця взаємодія залежить від їх взаємного розташування, яке в свою чергу визначається структурою міофіламентів та їх просторовою укладкою в гратці саркомеру. На фізіологічну важливість структури саркомеру вказує те, що рівень її впорядкованості змінювався в ході еволюції [69-71] та те що м'язи з різною архітектурою саркомерів відрізняються своїми функціональними характеристиками [69, 72]. Механізм що пов'язує особливості геометрії гратки саркомеру з його механічними характеристиками, залишається предметом експериментальних та теоретичних досліджень. Далі ми розглянемо існуючі експериментальні відомості, що стосуються будови саркомеру та його окремих складових. Розглянемо деякі з відомих режимів роботи м'язового апарату в яких, як вважається, може відігравати важливу роль структура саркомеру, а також теоретичні дослідження в яких розглядається механізм цієї ролі.

1.3.1. Скорочувальні філаменти

Смугасті м'язи різних видів можуть відрізнятися розміром та симетрією біполярних міозинових філаментів, особливо значного характеру такі відмінності набувають для смугастих м'язів хребетних та смугастих м'язів, знайдених у безхребетних [70]. В усіх м'язах, що були досліджені у різних безхребетних, міозинові філаменти дуже схожі. Вони мають довжину ≈ 1.6 мкм, довжина голої зони (~ 160 нм) є трохи більшою за довжину хвостової частини міозину, діаметр остова філаменту складає ~ 14 нм. Вважається, що пари міозинових головок на поверхні міозинового філаменту розташовані вздовж трьох уявних коаксіальних спіралей. Кожна зі спіралей має крок 3×42.9 нм, зміщення на мономер 14.3 нм (на

один крок припадає 6 пар голівок). Таким чином, міозиновий філамент має потрібну обертальну симетрію в будь-якому поперечному перерізі. Кільце з міозинових головок на кожному зі зміщень на мономер вздовж осі (14.3нм). Розташування міозинових голівок повторюється через кожні 3 корони.

На відміну від хребетних, міозинові філаменти безхребетних можуть мати інший порядок обертальної симетрії, крок, але зміщення на мономер вони мають схоже, відстань між послідовними коронами складає ~14.3-14.5нм (можливо, така відстань обумовлена обмеженнями, які виникають в процесі агрегації молекул міозину II) [73].

Молекули F-актину, що входять до складу тонких філаментів, представляють собою спіральний полімер, утворений з мономерів G-актину. Дані про структуру F-актину були сконструйовані накладанням структур мономерів G-актину на кристалографічні дані з низьким розділенням структури F-актину [74]. В F-актині 13 молекул G-актину організовані в 6 лівих поворотів (спіраль 13/6) [75]. Зміщення на мономер складає 2.75нм, шаг спіралі 5.5 нм. Структура філаменту повторюється кожні $13 \times 2.75 = 35.75$ нм. Морфологічно цю актинову спіраль можна представити у вигляді двох коаксіальних правозакручених спіралей, що мають великий крок. Зміщення на мономер для мономерів, що розташовані вздовж кожної з цих морфологічних спіралей, складає 5.5нм. Тропоміозин лежить в рівчачку між цими двома спіралями, одна молекула тропоміозину взаємодіє з 7 мономерами філаменту. В подальшому здійснювалося теоретичне покращення цієї структури [76, 77], але основні особливості залишились. Літальні м'язи комах мають актинову спіраль 28/13. Зсув на мономер уздовж осі залишається таким же (2.75 нм), однак повтор перетину тепер 38.5 нм, а довгоперіодичний крок 2×38.5 нм.

1.3.2. Гратка А-смуги

При кристалографічних дослідженнях м'язів, м'язи різних тварин можуть давати більш чи менш чіткі рефлекси. Наприклад, серед хребетних м'язові волокна кісткових риб дають більш чіткі рефлекси, ніж волокна з м'язів жаби, кролика чи курчати. Ще більш чіткі рефлекси можна отримати від асинхронних літальних

м'язів комах. Ця відмінність пов'язана з різним ступенем впорядкованості в структурі саркомеру, а саме з впорядкованістю в аксіальній орієнтації товстих філаментів. Цю орієнтацію можна визначити по орієнтації корон поперечних містків на електронно-мікроскопічних знімках поперечних перерізів м'язових волокон. У хребетних тварин було знайдено два типи розташування корон поперечних містків на поперечному зрізі саркомеру [70, 78]. Перший тип - проста ґратка (simple lattice) - всі корони орієнтовані однаково, це більш упорядкований тип решітки. Другий тип – супер ґратка (simple lattice) - всі корони одного рівня орієнтовані в одному з двох напрямків. Супер ґратка домінує у всіх вищих хребетних, включаючи людину, кролика, щура, мишу, жабу. Так само цю ґратку можна знайти від найбільш примітивної міксини (безщелепні) до дводишних риб і тетраподів. Проста ґратка у хребетних знайдена тільки у декількох класів, включаючи кісткових риб. Структуру простої ґратки мають саркомери літальних м'язів комах.

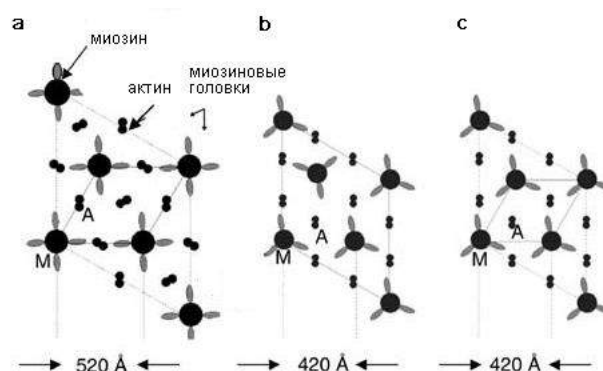


Рис. 1.3. Поперечний переріз ґратки А-смуги саркомеру: а) кісткових риб; б) жаб; с) літального м'язу комах.

В простій ґратці конкуренція містків за зв'язуючі центри на актині вища, ніж в супер ґратці. Більш рівномірний розподіл поперечних містків навколо тонких філаментів в супер ґратці збільшує ймовірність зв'язування поперечного містка з актином. Було виявлено, що м'язи риб, як правило, виробляють меншу силу на одиницю поперечного перерізу, ніж м'язи вищих хребетних [79].

1.3.3. Роль структури ґратки саркомеру в роботі скорочувального апарату, експериментальні та теоретичні відомості

Просторова структура саркомеру, обмежуючи взаємодію поперечних містків один з одним та з актином, може призводити до появи кооперативних ефектів в їх роботі. Колективні ефекти в роботі поперечних містків спостерігаються експериментально в роботі м'яза на різних рівнях його організації. Так, синхронізація роботи поперечних містків може здійснюватися за фізіологічних умов, наприклад, в літальних м'язах безхребетних, для яких характерні коливальні режими роботи. Ці режими їх роботи можуть бути пов'язані з високим ступенем упорядкованості ґратки їхніх саркомерів (проста ґратка).

Для м'язів хребетних синхронні режими роботи поперечних містків не характерні, однак вони також можуть спостерігатися за певних експериментальних умов. В експериментальних дослідженнях було показано, що перехідні відгуки м'язового волокна на східчасті зміни сили можуть мати осциляторний характер [2]. Схожий феномен також спостерігається на рівні саркомерів та пари скорочувальних філаментів [3-6]. В ряді попередніх моделей цьому явищу була надана теоретична інтерпретація [21-23]. Було зроблено припущення, що ці осциляції є проявом колективної поведінки поперечних містків, та її механізм є тісно пов'язаним зі структурою саркомеру, а саме дискретністю ґратки філаментів. Далі розглянемо ці експериментальні та теоретичні дослідження детальніше.

Перехідні синхронні коливання саркомерів при швидкій зміні ізотонічного навантаження. Східчаста зміна напруги м'язового волокна, що скорочується ізометрично до величини $0.90-1.12P_0$, призводить до різкої зміни довжини волокна відповідно до нового навантаження [2, 80]. Після цього волокно починає скорочуватися (або розтягуватися). В перехідному режимі зміна довжини відбувається не лінійно, а загасаючими коливанням, рис. 1.4. Частота коливань ~ 10 Гц, тривалість ~ 400 мс, подвійна амплітуда складає 2.7 нм [2]. Паралельно з коливаннями сили також відбуваються коливання жорсткості м'язового волокна, ці коливання відстають по фазі від коливань сили на ~ 20 мс.

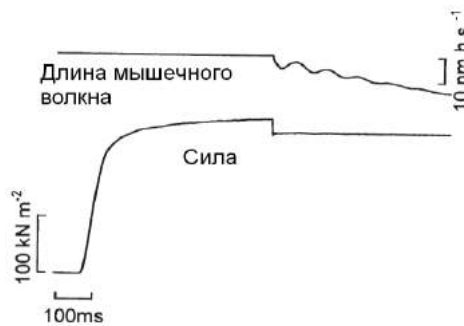


Рис. 1.4. Рис. 3b з [2]

Оцінимо довжину, на яку скорочується півсаркомер за один період коливань. Якщо, наприклад, використати рис. 6.a з [2], ми отримаємо швидкість скорочення ~ 0.213 нм/мс на півсаркомер, період коливань 88.33 мс, тобто за період скорочення півсаркомер зменшиться на $\sim 18.84 \approx 7 \cdot 2.7$ нм.

Східчасті зміни довжини саркомерів. В експериментах по скороченню окремих пар актин-міозин, окремих міофібрил в траєкторії зміни довжини спостерігають великомасштабні сходинки різної величини, що є кратними 2.7 нм. Відстань 2.7 нм відповідає лінійному повтору мономерів вздовж товстого філаменту.

В роботі [5] реєстрували зміни довжини саркомерів при рамповому скороченні та розтягуванні саркомерів окремих міофібрил серцевого м'язу кролика та летального м'язу джмеля. Величини сходинок, що спостерігалися в траєкторії зміни довжини саркомерів, були кратні 2.7 нм, рис. 1.5. Співвідношення між сходинками різної величини залежить від швидкості скорочення/розтягання. При зменшенні швидкості відбувається збільшення частоти більших кроків відносно малих, рис. 1.5, b). Середня тривалість пауз між сходинками в саркомерах кролика складала ~ 0.5 с. В паралельній роботі [3], з аналогічним протоколом, вивчали міофібрили кролика. Також в цій роботі було показано, що ступінь перекриття актину та міозину не впливає на величину кроку, і що в неактивованих міофібрилах величина кроку складала 2.3нм.

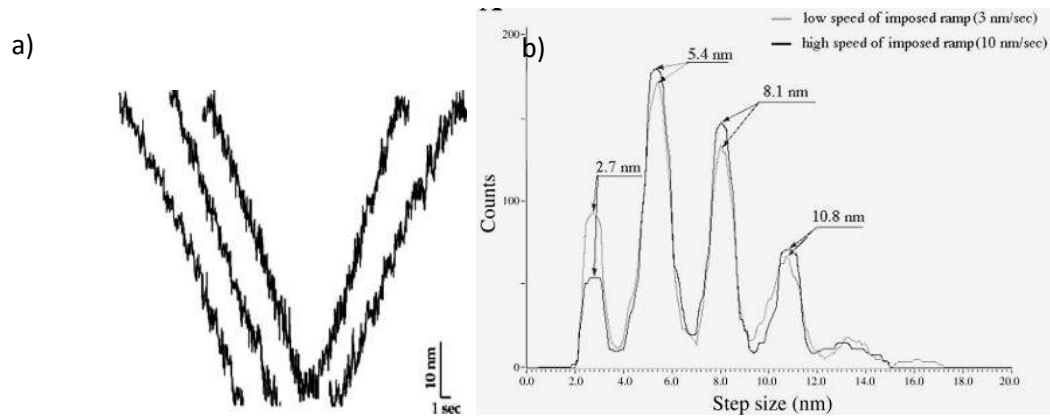


Рис. 1.5. Приклади траєкторії довжини саркомеру а) гістограми довжини сходинок б) міофібрили з м'язу кролика. Довжини сходинок були отримані при малій (b, сіра лінія) та високій (b, чорна лінія) рамповій швидкості розтягування (~3-4 нм/с/саркомер), рис. 5 та рис 8а з роботи [5].

Скорочення окремих пар актин-міозин. Аналогічні результати були отримані для скорочення окремого тонкого філаменту уздовж окремого товстого філаменту [6]. Величини сходинок також були кратні 2.7 нм, Рис. 1.6. Траєкторія руху актину включала як прямі, так і зворотні кроки, останні були менш виражені.

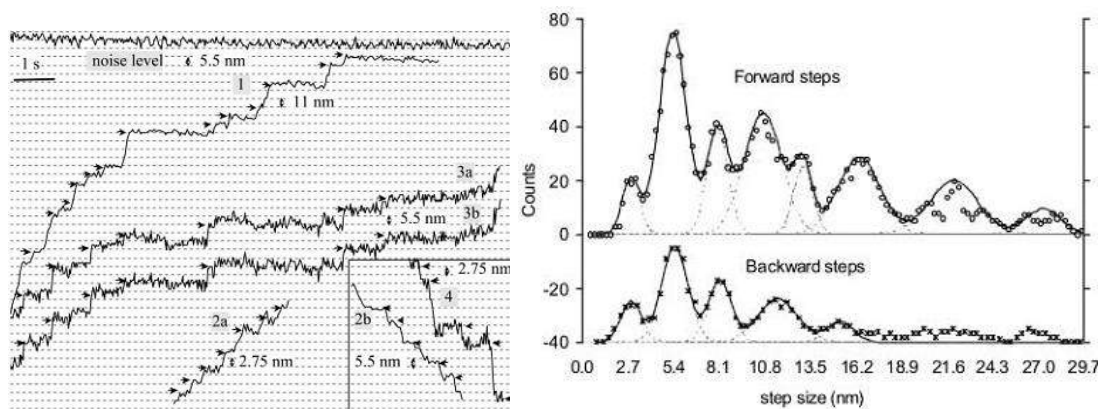


Рис. 1.6. а) Траєкторії переміщення окремого актинового волокна уздовж окремого міозинового волокна. б) Гістограма величини кроків. [6]

В роботі [81] було виявлено, що нативні товсті філаменти молюска (*Mytilus edulis*) та мечохвосту (*Limulus polyphemus*) в циклі їх розтягування кантеліверами змінюють довжину східчасто. Величина сходинок кратна 2.7 нм.

Великомасштабні сходинокки, величина яких кратна 2.7 нм, спостерігаються в препаратах різного рівня організації - від саркомерів до окремих філаментів, як у безхребетних так і у хребетних.

Сходинок, що існують на рівні міофібрили, є результатом високого рівня кооперації. Міофібрила вміщує тисячі паралельних філаментів, якщо кожен з філаментів мав би власну траєкторію ковзання, відмінну від інших філаментів, траєкторії змін довжини саркомерів були б гладкими, не мали б сходинок. Узгоджені різкі переходи між паузами та сходами означають наявність високого рівня кооперації між паралельними філаментами [82].

Відповідність між динамікою та структурою, що спостерігається для актинових та міозинових філаментів, подібна до такої в системі мікротрубочки-кінезин, де крок 8 нм, на який зміщується кінезин, дорівнює аксіальному повтору тубуліна вздовж протофіламенту. В цій системі існують зворотні кроки, які також кратні 8 нм. Також є відповідність і до результатів, отриманих для цілого м'язового волокна [2], де подвійна амплітуда також складала 2.7 нм на півсаркомер. [82].

Молекулярний механізм коливальних чи стрибкоподібного ковзання. Східчастий режим скорочення, що спостерігають на рівні саркомеру експериментально, було отримано теоретично в деяких моделях. Характерною особливістю цих моделей був їх дискретний характер, в сенсі дискретності величини відстаней між містками та зв'язувальними центрами на актині. В роботі [22] був отриманий східчастий режим скорочення. В цій роботі моделювалась пара актин-міозин з дискретно розташованими поперечними містками на міозині. Наявність сходинок в траєкторії зміни довжини півсаркомеру спостерігалась при навантаженнях, близьких до ізометричного. Сходинок були результатом синхронного переходу великої кількості слабозв'язаних містків в сильнозв'язаний стан з виконанням ними робочого ходу. Слабозв'язані містки переходять в сильнозв'язаний стан тільки після певного скорочення їх еластичного елемента. При великих навантаженнях це відбувається не одразу, але після накопичення їх певної кількості. Величина кроку траєкторії була близькою до величини робочого кроку. Кількісний аналіз зв'язку величини кроку з параметрами ґратки відсутній.

В роботі [21] також було отримане східчасте ковзання в ізометричному режимі. В роботі зазначається, що таке ковзання пов'язане з дискретним характером ґратки філаментів. Величина сходинок, що була отримана в моделі, складала 7 нм,

що приблизно дорівнювало різниці періодичності розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів на товстих та тонких філаментах [21].

Таким чином, результати, які були отримані в згаданих роботах, кількісно не відтворюють експериментальну величину сходинки. Також залишаються питання щодо походження величини сходинки, можливому її зв'язку з геометричним параметрами ґратки філаментів, природи утворення сходинок, величина яких є в декілька разів більшою, ніж величина елементарної сходинки, а також співвідношення між їхньою кількістю.

1.4. В'язкопружні властивості активного м'язового волокна

В'язкопружні властивості активного м'язу відображають ряд його важливих фізіологічних властивостей: здатність продукувати роботу, здатність серцевого м'язу та літальних м'язів комах працювати в осциляторному режимі. З іншого боку, вважається, що параметри в'язкопружних властивостей відповідають параметрам мікроскопічного рівня, що характеризують циклічну роботу міозинових моторів, і таким чином, їх дослідження є важливим методом вивчення роботи скоротливого апарату в нативних умовах.

В'язкопружні властивості активного м'язового волокна вивчаються за допомогою реєстрації його силового відгуку на гармонійні, східчасті або випадкові збурення довжини малої амплітуди [38, 41, 44, 83-85]. З теоретичної точки зору, у випадку лінійних систем ці методи аналізу мають давати ідентичну інформацію, і результати одного методу можуть бути передбачені з результатів другого. Для м'яза умова лінійності виконується у випадку малих амплітуд змін довжини. З експериментальної точки зору, легшим для проведення є аналіз перехідних процесів, однак аналіз частотних характеристик дає більш точні результати [83].

1.4.1. Східчасті зміни довжини

У відповідь на східчасту зміну довжини м'язового волокна, що скорочується ізометрично, його напруга змінюється в декілька фаз, що мають різні характерні часи та амплітуди [44, 86, 87]. Зазвичай розрізняють 4 фази, рис. 1.7. Фаза 1 – миттєва зміна напруження, напруження в цій фазі міняється синхронно зі зміною

довжини. Фаза 2 - фаза швидкого відновлення напруги. Напруга починає швидко повертатися до вихідного ізометричного рівня. Фаза 3 має меншу швидкість, ніж фаза 2, напруження в цій фазі перестає відновлюватися (виходить на плато) або, навпаки, починає зростати/падати при східчастому розтягуванні/скороченні («активація розтягуванням/деактивація скороченням»). В фазі 4 напруження продовжує відновлюватись до ізометричного рівня, але зі швидкістю значно меншою, ніж швидкість фази 2. За час порядку 1 с сила повертається до ізометричного рівня.

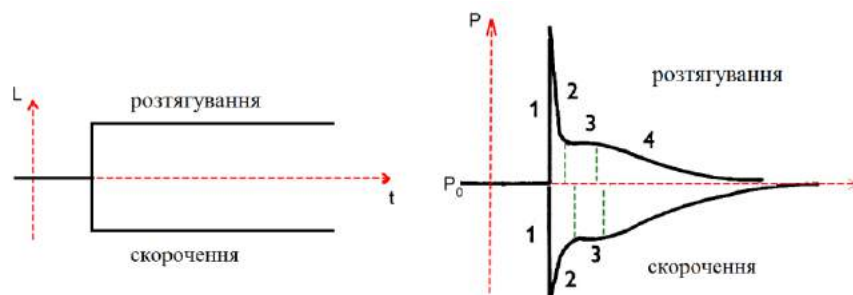


Рис. 1.7. Ілюстрація силового відгуку (P) м'язового волокна напівсухожильного м'яза жаби на миттєву зміну його довжини (L) [87]. Цифрами показані фази силового відгуку. t – час, P_0 – ізометричне напруження .

Відгук напруження на східчасте розтягання й скорочення практично є дзеркальним відбиттям один одного, хоча деяка асиметрія присутня. Фази 2-4 легше ідентифікувати при східчастому скороченні. Фаза 3 є найбільш чітко вираженою для літальних м'язів комах [38].

1.4.2. Гармонійні зміни довжини

При аналізі частотних характеристик деформація м'язового волокна здійснюється по гармонійному закону $L \sin(2\pi ft)$, де L – амплітуда коливань довжини, f – частота. Якщо L є достатньо малою, напруження волокна також змінюється по гармонійному закону: $P \sin(2\pi ft + \varphi)$, де $P(f)$ – амплітуда коливань напруження. Коливання сили відрізняються по фазі від коливань довжини на $\varphi(f)$. Відношення $Y(f) = P(f)/L$ називають динамічним модулем (Н/м). Силевий відгук м'яза можна представити як суму двох компонент синфазної та квадратурної, що

мають таку ж фазу, як у змін довжини (синусоїда), та випереджають їх на 90° (косинусоїда):

$$P(f)\sin(2\pi ft + \varphi) = P(f)\cos(\varphi) \cdot \sin(2\pi ft) + P(f)\sin(\varphi) \cdot \cos(2\pi ft) \quad (1.1)$$

Величини:

$$\begin{aligned} Y_e(f) &= P(f)\cos\varphi / L = P_e / L \\ Y_v(f) &= P(f)\sin\varphi / L = P_v / L \end{aligned} \quad (1.2)$$

називають динамічним модулем пружності ($Y_e(f)$) та динамічним модулем в'язкості ($Y_v(f)$). $Y_e(f)$ - є мірою енергії, що передається, а потім вивільнюється в системі на протязі кожного циклу коливань (еластична складова), $Y_v(f)$ - є мірою енергії, що розсіюється в тепло на протязі кожного циклу коливань (в'язкісна складова). Силовий відгук, що відстає по фазі від змін довжини, буде мати негативний модуль в'язкості, тоді як той, що випереджає по фазі - дасть позитивний.

В експериментах з м'язовими волокнами амплітуда L становить близько 0.25% від початкової довжини м'яза. Величини $Y(f)$, $Y_e(f)$ та $Y_v(f)$ (Н/м) нормують множачи їх на відношення початкової довжини волокна до площі його поперечного перерізу (Н/м²).

Використовуючи комплексні числа, величини $Y(f)$, $Y_e(f)$ та $Y_v(f)$ можна також представити наступним чином:

$$Y(if) = Y_e(f) + iY_v(f) \quad (1.3)$$

де $Y(if)$ - динамічний комплексний модуль, i - уявна одиниця. Комплексний модуль характеризує лінійний відгук системи на зміни довжини, у частотному домені, і повністю описує реологічні властивості в'язкопружного матеріалу. Модуль $|Y(if)| = \sqrt{Y_e(f)^2 + Y_v(f)^2}$, дасть Y , а аргумент $\arg[Y(if)] = \arctg(Y_v(f)/Y_e(f))$ дасть зсув фаз сигналів сили й довжини. Числа $Y(if)$, відкладені на комплексній площині, утворюють діаграму Найквіста. Довжина вектору, що проведений з початку координат до певної точки кривої, дорівнює Y , а його кут нахилу φ . Для пасивних матеріалів $Y_e(f)$ та $Y_v(f)$ позитивні, експериментальна установка

здійснює роботу над матеріалом, всі точки на діаграмі Найквіста будуть лежати в I чверті. Для матеріалів, що мають внутрішні джерела енергії (наприклад, активний м'яз), $Y_e(f)$ та $Y_v(f)$ можуть бути негативними (еластичність з «негативним коефіцієнтом жорсткості», «негативна в'язкість»), матеріал буде здійснювати роботу над установкою, точки діаграми Найквіста опиняться в II-IV чвертях.

Типові частотні характеристики м'язового волокна наведені на рис. 1.8. Годограф Найквіста (рис. 1.8, с) лежить в I та II чвертях, оскільки на середніх частотах модуль в'язкості є від'ємним. Такі частотні характеристики можуть бути апроксимовані характеристиками системи, що складається з чотирьох паралельно з'єднаних ланок: пропорційної та трьох реальних диференціюючих [83]:

$$Y(if) = H + \frac{Aif}{a + if} - \frac{Bif}{b + if} + \frac{Cif}{c + if} \quad (1.4)$$

Відповідна передавальна функція має вигляд:

$$W(s) = H + \frac{As}{a + s} - \frac{Bs}{b + s} + \frac{Cs}{c + s} \quad (1.5)$$

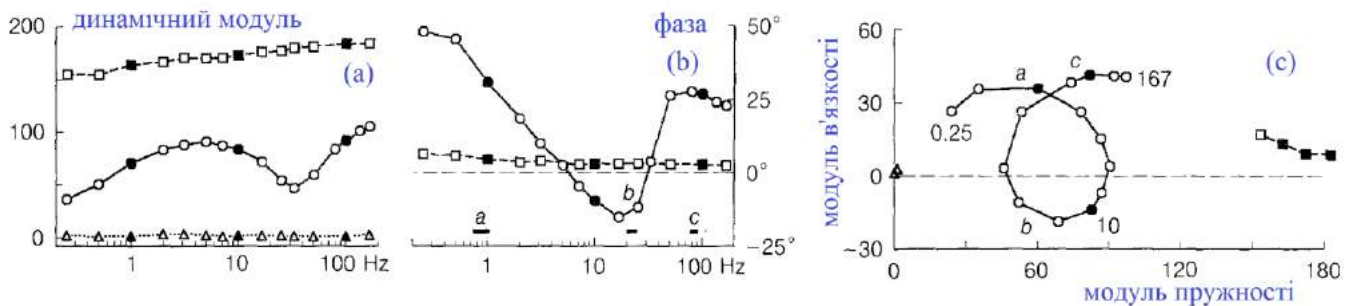


Рис. 1.8. Діаграми Бодє (а-б) та Найквіста (в) для м'язового волокна кролика в розслабленому (Δ), активованому (\circ) станах та в стані ригору (\square). Перемальовано з [83], Fig. 3

Параметри A , B та C характеризують амплітуди перехідних процесів диференціюючих ланок, а параметри a , b і c - їх характерні частоти. Параметр H - це комплексний модуль, екстрапольований до нульової частоти (коли силовий відгук формується виключно пружними компонентами системи). Комплексний модуль, екстрапольований до безкінечної частоти складе $Y_\infty = H + A - B + C$.

Теоретично для лінійної системи її перехідні характеристики можуть бути отримані через її частотні характеристики та навпаки. З (1.5) витікає, що:

$$P(t) = [H + A \exp(-2\pi at) - B \exp(-2\pi bt) + C \exp(-2\pi ct)]L \quad (1.6)$$

З (1.6) видно, що силовий відгук на східчасті зміни довжини, може бути представлений як сума трьох експоненційних перехідних процесів [83]. Ці процеси називають (A), (B) та (C), вони мають амплітуди A , B та C , та характерні швидкості $2\pi a$, $2\pi b$ та $2\pi c$.

Результати припасування комплексного модуля (1.4) до експериментальних частотних характеристик, отриманих для м'язових волокон скелетного м'язу кролика, [88] наведені в таблиці 1.1.

Таблиця 1.1

Параметри емпіричної передавальної функції для скінованих м'язових волокон з поперекового м'язу кролика, при 20°C , при $\text{MgATP}=5.1$ ммоль, $\Phi_{\text{H}}=8$ ммоль, амплітуда зміни довжини 0.25%, [88]

Параметр	Значення	Од. вимір.
$2\pi a$	6.0 ± 0.1	с-1
$2\pi b$	99 ± 2	с-1
$2\pi c$	580 ± 10	с-1
H	1.16 ± 0.08	МН/м ²
A	6.4 ± 0.4	МН/м ²
B	5.9 ± 0.5	МН/м ²
C	10.3 ± 0.7	МН/м ²
P_0	0.140 ± 0.009	МН/м ²
Y_∞	12.0 ± 0.7	МН/м ²

Діаграми Найквіста та Боде, а також перехідна функція для (1.5) з параметрами 1.1 показані на рис. 1.9. Також показані часові та частотні характеристики окремих процесів (A), (B) та (C).

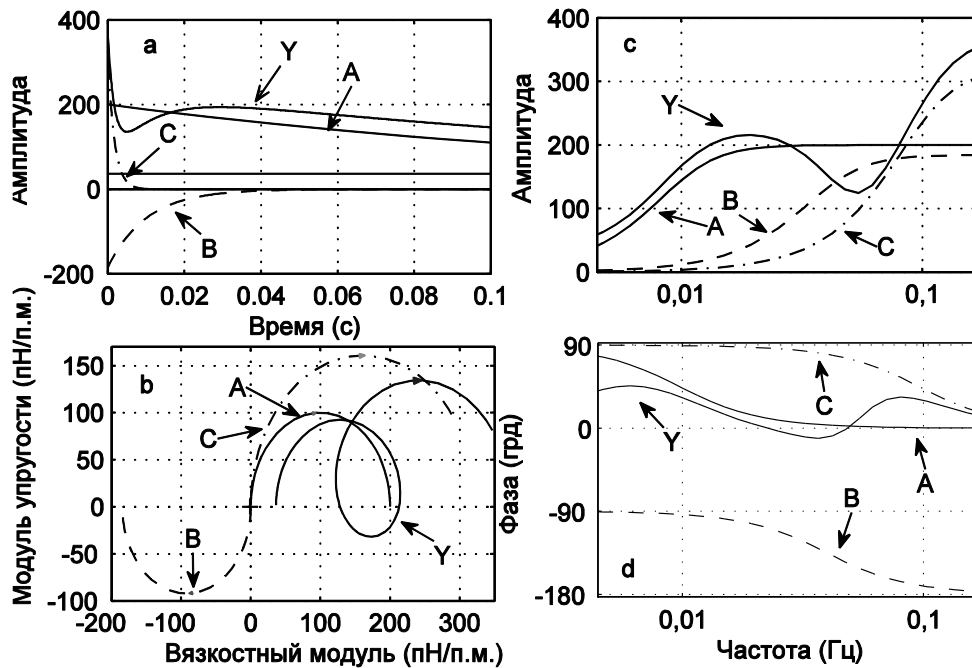


Рис. 1.9. Динамічні характеристики м'язового волокна. Перехідні (а) та частотні (b-d) характеристики передавальної функції що відповідає комплексному модулю (1.4) з параметрами з таблиці 1.1 (криві позначені як Y). Для порівняння також наведені динамічні характеристики передавальних функцій, що відповідають окремим процесам (А), (В) та (С) (криві позначені як А, В та С відповідно).

Як бачимо, діаграма Найквіста комплексного модуля м'язового волокна складається з трьох напівкруглих арок, що відповідають процесам (А), (В) та (С). На низьких та високих частотах м'яз поглинає створену над ним результуючу роботу, яку виробляє мотор змінюючи його довжину по гармонійному закону. На середніх частотах м'яз виробляє роботу, допомагаючи мотору розтягувати його. Результуюча робота – різниця між роботою яку виконує м'яз у ході фази скорочення та роботою виконаною мотором у ході фази розтягання. Відповідно процеси (А) та (С) мають позитивне значення в'язкості, та на характерних для них низьких та високих частотах силовий відгук випереджає по фазі зміни довжини. Процес (В) має негативну в'язкість, на середніх частотах силовий відгук, по фазі відстає від змін довжини.

Для м'яза частоти a , b та c співвідносяться як $a \ll b \ll c$, відповідно до цього, експоненційні процеси (А), (В) та (С) (повільний, середній і швидкий процеси відповідно), будуть відповідати за формування силового відгуку м'язового волокна

на східчасті зміни його довжини, таблиця 1.2. Основні відмінності стосуються Фази 2 та процесу (B). Фаза 2, в експериментах по східчастій зміні довжини, чітко виражена тільки в асинхронних літальних м'язах комах [38, 83, 89, 90]. Для м'язів цього типу ця фаза має важливе функціональне значення. У цій фазі, при східчастому розтягуванні, сила не зменшується до вихідного рівня, а знову (після фази 1) починає зростати ('delayed tension'). При скороченні, навпаки, спостерігається повторне зменшення сили. Характерна частота цієї фази збігається із частотою роботи літальних м'язів і процеси, що лежать в її основі, також визначають явище активації розтяганням і деактивації скороченням [91], що дозволяє здійснювати цим м'язам коливальні рухи крила. У м'язах хребетних ця фаза менш виражена, вона або взагалі може бути відсутньою або ж сила, у цій фазі, виходить на плато [83]. При гармонійному аналізі процес (B) є завжди присутнім у всіх вивчених препаратах (м'язові волокна кістякових м'язів жаби, річкового раку [83], скіновані м'язові волокна кістякових м'язів кролика [83], м'язові волокна серцевого м'яза [84, 85], міофібрили кістякових м'язів кролика [92]).

Для перехідної функції, отриманої для (1.5), рівень сили після фази 4 є трохи вищим, ніж до східчастої зміни довжини (він дорівнює $\sim H\delta L$) [83]. Експериментальне значення $H > 0$, та воно є малим в порівнянні з іншими амплітудами [83].

Таблиця 1.2.

Співставлення перехідних процесів, які лежать в основі перехідних та частотних характеристик, що отримують в експерименті для м'язових волокон [83]

Гармонійний аналіз	Східчаста зміна довжини ($\delta L > 0$)
Y_{∞} -миттева жорсткість	Фаза 1 – миттєвий стрибок сили (T_1), сила збільшується на $\sim Y_{\infty}\delta L$
Процес (C)	Фаза 2 – швидке відновлення сили (T_2), сила зменшується на $\sim C\delta L$, з ефективною константою швидкості $2\tau_c$
Процес (B)	Фаза 3 – повторне більш повільне зростання сили (T_3), амплітуда $\sim B\delta L$, ефективна константа швидкості $2\tau_b$
Процес (A)	Фаза 4 – повільне відновлення сили (T_4), амплітуда $\sim A\delta L$, ефективна константа швидкості $2\tau_a$
Процес (D)	
H – залишкова жорсткість	

Емпіричний вираз комплексного модуля (1.4) має й інші форми [84]. Так само існують і різні інтерпретації феноменологічних коефіцієнтів в цьому виразі.

1.4.3. Природа в'язкопружних властивостей

Стосовно молекулярної природи експоненційних процесів точаться дискусії. Вважається, що кінетика поперечних містків є чутливою до зовнішньої напруги, і спостережувана динаміка силового відгуку при змінах довжини м'язового волокна виникає як наслідок перерозподілу поперечних містків між різними біохімічними станами (між силогенеруючими та тими, що не продукують сили). Таким чином, кінетичні властивості перехідних процесів (позірні константи швидкості) відображають швидкості окремих стадій механохімічного циклу поперечних містків (фундаментальні або власні константи швидкості). Дискусії стосуються питань, з якими етапами механохімічного циклу пов'язаний кожен з процесів, та як саме зміни довжини впливають на кінетику переходів в механохімічному циклі. Для співставлення цих процесів певним етапам механохімічного циклу в експериментах по східчастій зміні довжини або гармонійному аналізу вивчають вплив на їх характеристики температури, концентрації лігандів (АТФ, АДФ, Ф_н) [83, 93-98].

В роботах Kawai та ін. [7, 83, 93-95] на основі вивчення впливу концентрації лігандів MgАТФ, MgАДФ та Ф_н на частотні характеристики м'язових волокон кролика, трьом експоненційним процесам були співставленні певні переходи в механохімічному циклі поперечних містків. Швидкий процес (С) пов'язується з етапом відриву поперечного містка у ригорному стані від актину при зв'язуванні нової молекули АТФ. Процес (В) пов'язують з етапом виконання поперечним містком робочого ходу, після якого відбувається відрив фосфату Ф_н. Також припускається, що процес (А) може бути пов'язаний з етапом відриву АДФ за умови наявності в саркомері послідовної еластичності. Ці результати були отримані в рамках точкової кінетичної моделі. Така модель не дає конкретного механізму збурень кінетики та змін сили, що виникають при змінах довжини.

Природа в'язкопружних властивостей також розглядалась в ряді модельних досліджень, зокрема, в цих роботах розглядали механізм збурень кінетики та сили,

що виникають при змінах довжини. В роботі [84] розглядається молекулярна природа перехідного процесу (С). Модель використовує двостадійний кінетичний, що включає вільний та зв'язаний стани. Час перебування містка в зв'язаному стані (t_{on}), а також у вільному (t_{off}) є випадковими величинами з експоненційним розподілом. Параметри цих розподілів не залежать від зовнішньої напруги чи деформації еластичного елемента поперечного містка. За відсутності зовнішньої сили, в зв'язаному стані, кожен поперечний місток генерує силу, що пропорційна тільки величині робочого ходу (середня відстань від поперечного містка до зв'язувального центру дорівнює нулю). Сила що виникає при зовнішніх збуреннях довжини півсаркомеру, модулюється випадковими процесами зв'язування та відривів містків. Симуляція гармонійних змін довжини півсаркомеру здійснювалась в стохастичній моделі з 20000 поперечними містками, також її результати апроксимувались з використанням аналітичних обчислень. Показано що для відтворення процесу (С), достатньо двох стадійного циклу, без необхідності введення залежності від напруження кінетики поперечних містків. Показано, що характерна швидкість процесу (С), $2\pi c$, дорівнює \bar{t}_{on}^{-1} (де \bar{t}_{on} – середнє значення t_{on}) або константі швидкості відривів поперечних містків. Її амплітуда є пропорційною середній кількості зв'язаних містків: $\bar{t}_{on} / (\bar{t}_{on} + \bar{t}_{off}) N k_{cb} L$, де N – кількість поперечних містків, k_{cb} – жорсткість їх еластичного елемента, L – амплітуда збурень довжини. Отримана аналітично в моделі передавальна функція для процесу (С) співпадає з такою, що використовується при апроксимації експериментального комплексного модуля. Ця передавальна функція відповідає елементу Максвелла, а отже робиться висновок про симетричність силового відгуку на східчасте розтягування та скорочування. Динаміка процесу (С) визначається відривами поперечних містків, після зв'язування АТФ з поперечним містком в стані ригору.

В дійсності, кінетичний цикл поперечних містків включає більш ніж два стани, переходи між цими станами відбуваються з різною швидкістю, в цьому випадку розподіл для t_{on} не може бути описаний експоненційним розподілом [84]. У

випадку наявності декількох зв'язаних станів t_{on} буде складатись з декількох незалежних періодів, на протязі яких місток буде перебувати в цих станах, кожен з цих періодів описується окремим експоненційним розподілом [99], і сумарний розподіл для t_{on} буде описуватись за допомогою гамма розподілу [99]. Робота [99] продовжує результати [84], вдосконалюючи їх завдяки використанню гамма розподілу для t_{on} .

В роботі [100] розглядається природа процесу (В). В цій роботі робиться аналіз на основі двохстадійної моделі Хакслі з модифікованими константами швидкості. Залежна від деформації (x) константа швидкості $f(x)$ представляє собою Гаусову криву з середнім 0. При цьому розглядається два варіанти константи швидкості відриву $g(x)$, вона або є сталою ($g(x) = G_0$), або лінійно збільшується з x ($g(x) = G_0 + G_1x$). В першому випадку модель дає результати, що є аналогічними [84], тобто дозволяє відтворити тільки процес (С), швидкість якого співпадає з швидкістю відривів містків (G_0). В другому варіанті ($g(x) = G_0 + G_1x$) модель дозволяє відтворити силовий відгук, фаза якого, аналогічно процесу (В), відстає по фазі від гармонійних збурень довжини, але такий відгук спостерігається на частотах, що дорівнюють або є більшими за $G_0 / 2\pi$ - характерну частоту процесу (С) (тоді як з експерименту відомо, що $2\pi b < 2\pi c$, таблиця 1.1). Робиться висновок, що проста монотонна залежність $g(x)$ в двохстадійній моделі не може пояснити процес (В). Висувається гіпотеза, що процес (В) визначається в'язкопружними властивостями голівки поперечного містка, припускається що їх характерна частота є меншою за G_0 .

В роботах [101, 102] розглядається молекулярна природа негативної в'язкості. Використовується трьохстадійний ([101]) та шестистадійний ([102]) механохімічні цикли. Швидкості переходів певних стадій механохімічного циклу залежать від еластичної деформації поперечного містка. У випадку з шестистадійним циклом це стадія зв'язування та стадія виконання робочого ходу. Стадія відриву в кінці циклу необоротна. Негативна в'язкість пояснюється через пояснення природи затриманої

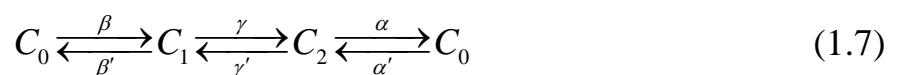
напруги (часова зона, В-процес). Після миттєвого розтягування відбувається зміна трьох констант швидкості: зростає константа зв'язування в вільний стан (оскільки розтягування зменшує відстань голівка поперечного містка – зв'язувальний центр); зменшується константа швидкості переходів, пов'язаних з виконанням робочого ходу (перехід від слабо- до сильнозв'язаного стану) та збільшується константа швидкості зворотного робочого ходу. Фаза II пов'язана з миттєвим зменшенням повної швидкості переходів зі слабозв'язаного в сильнозв'язаний стан та, як наслідок, зменшенням заселеності останнього. Заселеність сильнозв'язаного стану переважно зменшується завдяки переходам, пов'язаним зі зворотнім робочим ходом, а не відривам сильнозв'язаних містків в вільний стан. Фаза III, навпаки, пов'язана з поповненням сильнозв'язаного стану. Завдяки збільшеній швидкості зв'язування відбувається накопичення слабозв'язаних містків, і через деякий час повна швидкість переходів в сильнозв'язаний стан починає знову зростати і врешті решт стає позитивною, а згодом і більшою за швидкість відривів сильнозв'язаних містків. Нові слабозв'язані містки швидко відновлюють та збільшують повну швидкість здійснення робочого ходу, знову поповнюючи заселеність сильнозв'язаного стану, що призводить до повторного зростання сили та (фаза III) її врівноваження з процесами зв'язування. Але врівноважування процесів відриву містків із процесами зв'язування та здійснення робочого ходу триває значно довше, що на деякий час уповільнює пропускну здатність циклу. Останнє викликає повільне зростання кількості тягнучих містків після робочого ходу. Саме ця затримка і відповідає як за явище відстроченої напруги (фаза III), так і за негативну в'язкість.

В роботі [103] використовується трьохстадійний механохімічний цикл, один зі зв'язаних станів є слабозв'язаним. На відміну від [101, 102], відстрочене зростання напруги після розтягнення в [103] пояснюють не збільшенням швидкості зв'язування містків, а збільшенням швидкості переходів зі слабозв'язаного в сильнозв'язаний стан. На основі аналізу просторово-часової динаміки розподілів трьох станів, було з'ясовано, що відтерміноване збільшення напруги після розтягування - результат зв'язування містків в сильнозв'язаний стан через слабозв'язаний.

Відтерміноване зменшення напруги після скорочення - результат відривів містків із сильнозв'язаного стану. Зазначається важливість співвідношення між значеннями констант швидкості та значеннями характерних частот. Трьом типам поведінки фази силового відгуку на трьох характерних частотах відповідають три різних значення швидкостей переходів.

В роботі [103] була побудована модель, що дозволяє відтворити три експериментальні факти: 1) форму частотних характеристик скелетних м'язів хребетних та літальних м'язів комах; 2) залежність між вихідною потужністю та АТФазною активністю при осциляторній роботі; 3) збільшення кількості зв'язаних поперечних містків в фазі III силового відгуку на східчате розтягування. Кінетичний цикл включає три стани: вільний, слабо- та сильнозв'язаний. Константи швидкості залежать від деформації еластичного елемента поперечного містка. Аналіз просторово-часової динаміки розподілів заселеності містків в зв'язаних станах показав, що: 1) процес (С) відображає зміни заселеності сильнозв'язаного стану в результаті швидких обмінів з слабозв'язаним станом. 2) процес (В) відображає процеси зв'язування поперечних містків в сильнозв'язаний стан (через слабозв'язаний) та відривів в вільний. 3) процес (А) відображає повільні переходи між вільним та слабозв'язаним станом. Згадані вище переходи відбуваються на різних ділянках деформації, затокуючи різні частини розподілів.

В роботі [7] запропонована евристична модель, що пояснює, як пов'язані зміни довжини та зміни сили, що ними викликаються. Розглядається трьохстадійний кінетичний цикл з вільним (C_0) та двома сильно зв'язаними (C_1 , C_2) станами:



Переходи $1 \rightarrow 2$ супроводжується виконанням робочого ходу, перехід $2 \rightarrow 0$ є оборотним. Припускається, що $\alpha + \alpha' \gg \beta + \beta' \gg \gamma + \gamma'$. Важливе припущення - наявність залежності деяких констант швидкості від деформації еластичного елемента зв'язаних поперечних містків. При розтягуванні/скороченні, збільшення/зменшення еластичної енергії поперечних містків буде збільшувати/зменшувати константи швидкості α (відрив зі стану ригору) та β'

(зворотній робочий хід). Ключовими є зміни α . Динаміка кінетичного циклу (1.7) може бути описана двома експоненційними процесами, що мають характерні швидкості $\lambda_2 = \alpha + \alpha'$ та $\lambda_3 = (\beta + \beta')K_\alpha / (1 + K_\alpha)$. Пертурбації довжини (а також температури, концентрації лігандів), що накладається на систему в стаціонарному стані, будуть міняти константи швидкості, що, в свою чергу, буде призводити до перерозподілу заселеності різних хімічних станів. Останнє на макроскопічному рівні супроводжується змінами сили.

Швидкий процес (С), або фаза II силового відгуку, пов'язаний зі змінами стану C_2 . При розтягуванні заселеність C_2 швидко падає внаслідок пришвидшення відривів поперечних містків; при скороченні, навпаки, вона збільшується, завдяки уповільненню їх відривів. Характерна швидкість процесу (С) дорівнює λ_2 , амплітуда визначається амплітудою змін C_2 .

Середній по швидкості процесу (В) (фаза III) пов'язаний зі змінами стану C_1 . При розтягуванні швидке збільшення вільних містків (C_0) після фази II буде збільшувати потік βC_0 , що в свою чергу збільшує C_1 зі швидкістю λ_2 (за умови $\beta C_0 > \beta' C_1$). При скороченні зменшення C_0 після фази II буде призводити до зменшення потоку βC_0 та зменшення C_1 (за умови $\beta' C_1 > \beta C_0$) зі швидкістю λ_3 . Кожен з експоненційних процесів при скороченні та розтягуванні пов'язані з одним і тим самим етапом в механічному циклі.

Зроблений огляд показує те, що в'язкопружні властивості активного м'язу відіграють важливе значення для розуміння молекулярного механізму м'язового скорочення. Стосовно природи в'язкопружних властивостей та впливу на них концентрації лігандів механохімічного циклу точаться дискусії. Дискусії головним чином стосуються питань відповідності окремим експоненційним процесам певних етапів механохімічного циклу поперечних містків, природи динамічних параметрів цих процесів. Також можна зауважити те, що деякі з моделей, які використовувались при дослідженні молекулярного механізму в'язкопружних властивостей, використовують певні припущення, щодо обґрунтованості яких можна поставитись критично.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Просторово розподілена стохастична модель півсаркомеру, що враховує еластичність скорочувальних філаментів

Чисельна реалізація моделі. Створення просторово розподіленої стохастичної моделі півсаркомеру, що складався з двох філаментів, в розділі 3, здійснювалось нами в рамках підходу, описаного в роботі [9]. Програмно модель була реалізована мовою C++ (Microsoft Visual Studio 2008) як консольний застосунок. Для прискорення розрахунків обчислення розпаралелювалися. Для реалізації розподілених обчислень використовувався інтерфейс передачі повідомлень MPI (MPICH2 v1.3, www.mpich.org) [104] [104] [104] [103]. Розрахунки проводився на кластері з 10 комп'ютерів Pentium III. Для запуску програми моделювання, зміни параметрів симуляції, збереження результатів використовувались скрипти, що були написані мовою Perl, Python.

В рамках цієї моделі розв'язується система лінійних рівнянь миттєвого балансу сил (3.3). Її розв'язок здійснювався з використанням методу LU-розкладання. Відповідно до цього методу, для системи лінійних рівнянь $\mathbf{AX}=\mathbf{B}$, матриця коефіцієнтів \mathbf{A} розкладається на верхню трикутну \mathbf{U} та нижню трикутну \mathbf{L} так, щоб $\mathbf{A}=\mathbf{L}*\mathbf{U}$. Матриця з невідомими \mathbf{X} знаходиться в два кроки, спочатку розв'язується систему лінійних рівнянь $\mathbf{LZ}=\mathbf{B}$, а тоді $\mathbf{UX}=\mathbf{Z}$. Для чисельної реалізації LU-розкладання використовувалась бібліотека SuperLU [105]. SuperLU є бібліотекою загального призначення для прямого розв'язку великих, розріджених, несиметричних систем лінійних рівнянь. Бібліотека написана на мові C та використовує MPI, OpenMP і CUDA для підтримки різних форм паралелізму.

При чисельній реалізації методу Монте-Карло використовувався генератор псевдовипадкових дійсних чисел «Вихор Мерсена» (Mersenne twister) [106], що має період $2^{19937}-1$.

Комп'ютерні експерименти. В обчислювальних експериментах віртуальний півсаркомер скорочувався ізотонічно та ізометрично, а також розтягувався в ізокінетичному режимі. При цьому реєструвалися його жорсткість і сила, кількість

зв'язаних містків і деформації їх еластичних елементів, потоки хімічних переходів поперечних містків між різними хімічними станами, траєкторія переміщення Z-мембрани. Симуляція експерименту з ізокінетичного розтягування мала деякі особливості. Відповідно до протоколу даного експерименту [1], спочатку півсаркомер скорочується в ізометричному режимі, далі розтягується з постійною швидкістю ($\approx 1-3$ мкм/с), після чого його довжина знову фіксується. В експериментах з м'язовим волокном, при його розтягуванні, здійснюється контроль довжини саркомерів. Для того аби швидкість розтягування саркомерів дорівнювала заданій, використовують негативний зворотній зв'язок по довжині саркомеру. Якщо довжина відхиляється від заданої, відбувається пропорційна зміна швидкості двигуна, що розтягує волокно [1]. В моделі симуляцію ізокінетичного розтягування проводили двома способами. Ми розтягували півсаркомер ізокінетично, переміщуючи тонкий філамент з заданою швидкістю, та ізотонічно, створюючи зовнішнє навантаження, яке розтягує півсаркомер з необхідною швидкістю. В другому випадку, при використанні фіксованого значення зовнішнього навантаження, завдяки випадковості механохімічних переходів поперечних містків, миттєва швидкість ковзання змінюється в часі випадковим чином навколо певного середнього значення, траєкторія буде відхилятися від заданої. Для підтримки постійності швидкості розтягування використовувався цифровий регулятор, який збільшує або зменшує зовнішнє навантаження, при відхиленнях траєкторії від заданої. Побудова системи автоматичного керування й розрахунки параметрів регулятора складаються з декількох етапів: 1) ідентифікація об'єкта керування (побудова його математичної моделі); 2) розробка структурної схеми системи автоматичного керування; 3) добирання параметрів регулятора для досягнення необхідної якості регулювання [107]. Оскільки вхідний сигнал (довжина півсаркомеру), що піддавався контролю, мав значний рівень шуму, в цифровій системі керування ми використали пропорційно-інтегральний (PI) регулятор. Деталі схеми цифрової системи керування та її чисельної реалізації наведені в додатку **A.4**.

Припасування кривих. Апроксимація кривих здійснювалась за допомогою функцій інструментарію Curve Fitting та Global Optimization пакету MathWorks MATLAB.

Ідентифікація великомасштабних сходінок в траєкторії переміщення Z-мембрани. Для траєкторій змін довжини півсаркомеру, отриманих в ізотонічному режимі, виконувалась автоматична ідентифікація величини великомасштабних сходінок (розділ 5). Для цього використовувалися два методи. Перший - це самостійно розроблена процедура, що використовує дискретне вейвлет перетворення. Другий метод був реалізований з використанням процедури та скриптів для пакету MATLAB, що були запропоновані в роботі [108]. Використання дискретного вейвлет перетворення дозволяє видалити з сигналу високочастотні складові, локалізувати точки перегину, стрибки. Що стосується траєкторії змін довжини півсаркомеру, до високочастотних складових відносяться: шум обумовлений випадковістю механохімічних переходів та різкі зміни довжини, що відповідають великомасштабним сходінкам. Обидві ці високочастотні складові представлені в коефіцієнтах деталізації перших рівнів декомпозиції траєкторії. Складові можуть бути відокремлені вибором належного порогового значення, що відокремлює відповідні коефіцієнти деталізації. Використовуючи коефіцієнти деталізації, що відповідають сходінкам, їх можна локалізувати в часі. Процедура ідентифікації сходінок була реалізована як набір скриптів в пакеті MATLAB, алгоритм процедури ідентифікації описаний в додатку А.3. Дискретне вейвлет перетворення здійснювався за допомогою функцій інструментарію Wavelet Toolbox. Для перетворення використовувався вейвлет Добеши ('db6'), порогове значення для відокремлення шуму обчислювалося з використанням принципу Штейна незміщеної оцінки ризику ('rigsure'). Ідентифікація повторно проводилась для 500 реалізацій траєкторій (кожна тривалістю 0.5 с), що були отримані для певної величини ізотонічного навантаження. Результати представлялись у вигляді нормованих гістограм розподілу величини сходінок.

Статистика. Процентільні 99% довірчі інтервали (ДІ) для середніх значень оцінювалися методом бутстрепінгу [109, 110], відповідні скрипти були написані в

програмі R (www.R-project.org) [111]. Використовувалась функції бутстрепінгу, реалізовані в бібліотеці 'boot' (<https://cran.r-project.org/web/packages/boot/index.html>). При розрахунках в усіх випадках генерувалося 10000 бутстреп вибірок (bootstrap replicates).

2.2. Детерміністична апроксимація просторово розподіленої стохастичної моделі півсаркомеру

Чисельна реалізація моделі. Програмно моделі, що були побудовані в рамках детерміністичної апроксимації (розділ 6 та 7), реалізовані як консольний додаток мовою C++ (Visual Studio 2008). Додатково детерміністична апроксимація та її варіант з СДР були реалізовані в пакеті MathWorks MATLAB (або GNU Octave). Для розв'язку системи ЗДР та СДР використовувались бібліотеки SUNDIALS (метод Гіра) [112], SDETools [113] та стандартні розв'язувачі ЗДР (solvers) пакету MATLAB. ЗДР та СДР розв'язувачі зі згаданих бібліотек здатні здійснювати детекцію перетину нуля, що необхідно для реалізації граничних умов системи диференційних рівнянь.

Для чисельного розв'язку диференційних рівнянь в частинних похідних використовувались метод характеристик та метод Лакса-Вендроффа [114]. Скрипти, що розв'язують рівняння, були написані для пакету MATLAB/GNU Octave.

Багатомірна глобальна оптимізація здійснювалась методом пошуку конфігурацій (пошук за зразком), реалізованому в пакеті MATLAB (функція patternsearch інструментарію Global Optimization).

Визначення амплітуди та фази гармонійного сигналу з відомою частотою здійснювалось за допомогою дискретного перетворення Фур'є з використанням вбудованої функції пакету MATLAB, fft – яка реалізує алгоритм швидкого перетворення Фур'є. Пошук власних векторів та власних значень матриці, що представляє коефіцієнти системи кінетичних рівнянь, здійснювалась з використанням функції eig пакету MATLAB.

Перерахунок експериментальних даних. Для співставлення результатів моделі з експериментальними результатами, що були отримані для м'язового

волокна, їх необхідно привести до загальних одиниць вимірювання. В експерименті силу нормують до площі поперечного перерізу м'язового волокна, зміни довжини до початкової довжини м'язового волокна. Модель обчислює силу на поперечний місток, зміни довжини є змінами довжини півсаркомеру. Така ситуація може відповідати декільком можливим варіантам роботи поперечних містків у реальному півсаркомері: 1) В поперечному містку силу генерує тільки одна з голівок [115-118], друга голівка тільки зв'язується з актином, даючи внесок у жорсткість, але силу не генерує. У цьому випадку модель фактично дає силу на поперечний місток. Для порівняння ізометричної сили м'язового волокна з моделлю, її необхідно перерахувати на поперечний місток (сила на поперечний місток дорівнює подвоєній силі на міозинову голівку). 2) В поперечному містку силу генерують обидві голівки [116], причому обидві голівки генерують однакову силу. Для порівняння ізометричної сили м'язового волокна з моделлю, її необхідно перерахувати на одну міозинову голівку. 3) У поперечному містку силу генерують обидві голівки, однак голівки зв'язуються й генерують силу незалежно. Для порівняння ізометричної сили м'язового волокна з моделлю, її необхідно перерахувати на одну міозинову голівку.

Якщо вважати, що обидві голівки поперечного містка беруть участь у генерації сили [116], для перерахунку напруги м'язового волокна на один поперечний місток, її необхідно помножити на величину:

$$\frac{1}{N_{mm} N_{cb} C_{cb}} \quad (2.1)$$

де N_{mm} – щільність міозинових філаментів у поперечному перерізі м'язового волокна; N_{cb} – кількість міозинових голівок на півфіламент; C_{cb} – частка зв'язаних поперечних містків в ізометричному режимі. Якщо ж силу генерує тільки одна з голівок [115-118], у чисельнику (2.1) з'явиться двійка. Щільність міозинових філаментів N_{mm} становить $0.51 \cdot 10^{15} \text{ м}^{-2}$ [33], частка C_{cb} становить 0.43 [33], число міозинових голівок на півфіламент $N_{cb}=294$. Наприклад, ізометрична напруга м'язового волокна кролика $0.140 \pm 0.009 \text{ МН/м}^2$ [88] в перерахунку на міозинову голівку буде становити 2.17 пН (на поперечний місток 4.34 пН).

В експериментах з гармонійного аналізу амплітуда коливань м'язового волокна становить близько 0.1-0.25% від початкової довжини, при початковій довжині саркомеру 2.5 мкм, а також враховуючи факт, що близько 60% еластичності скінованого м'язового волокна припадає на поперечні містки, амплітуда змін довжини еластичного елемента кожного з поперечних містків буде складе близько 0.75-1.9 нм.

РОЗДІЛ 3. ПРОСТОРОВО РОЗПОДІЛЕНА СТОХАСТИЧНА МОДЕЛЬ ПІВСАРКОМЕРУ ЩО ВРАХОВУЄ ЕЛАСТИЧНІСТЬ СКОРОЧУВАЛЬНИХ ФІЛАМЕНТІВ

До відкриття еластичності скорочувальних філаментів припущення про їх нерозтяжність слугувало засновком для багатьох тверджень, які робились при інтерпретації спостережуваних механічних закономірностей роботи м'яза. Так, наприклад, вважалось, що жорсткість м'яза є пропорційною кількості зв'язаних поперечних містків; зміна сили, що виникає при східчастій зміні довжини, інтерпретувалась як зміна заселеності поперечних містків в різних станах [41]. Однак, як було вперше показано в роботах [11-13], товсті та тонкі філаменти насправді є еластичними. Відповідно до цих робіт, близько 40-70% еластичності саркомеру може припадати на скорочувальні філаменти. Відкриття цього факту примусило переглянути інтерпретації багатьох експериментальних результатів [19]. Наявність деформацій еластичних філаментів, що виникають при фізіологічних напруженнях, означає, що вони можуть мати значну фізіологічну роль. Фізіологічна роль еластичності скорочувальних філаментів була показана в ряді експериментальних досліджень. Наприклад, від еластичності скорочувальних філаментів залежать пасивні та активні в'язкопружні властивості асинхронних літальних м'язових волокон комах, а також скорочувальні властивості [14, 15]. Відхилення еластичності від нормальних значень може впливати на здатність комах літати [14, 15], або навпаки, цілеспрямована зміна еластичності в онтогенезі може слугувати компенсаторним механізмом проти певного роду фізіологічних стресів (старіння) [16]. Відхилення еластичності від оптимальних значень може бути причиною спадкових кардіоміопатій [17]. Наявність локальних деформацій скорочувальних філаментів може впливати на кінетику взаємодій міозину з актином [9, 18, 19].

Для вивчення природи впливу еластичності скорочувальних філаментів, квантифікації деформацій та їх динаміки, що виникають в певних режимах роботи м'яза, було здійснено ряд теоретичних досліджень [8, 9, 42]. В роботі [42] в модифікованій двохстадійній моделі Хакслі було показано, що в скорочувальній

системі з еластичними скорочувальними філаментами та поперечними містками, що мають лише два хімічні стани (вільний та зв'язаний), можна відтворити запізнювання росту сили по відношенню до росту жорсткості при активації в ізометричному режимі. При цьому еластичність скорочувальних філаментів може бути основним фактором, що визначає це запізнювання. В роботі [9] був показаний вплив еластичності скорочувальних філаментів на кінетику переходів в механохімічному циклі поперечних містків. Зокрема, наявність еластичності приводила до збільшення імовірності зв'язування та збільшувала ізометричну силу. Недоліком згаданих робіт можна вважати те, що обрані в моделях залежності констант швидкостей механохімічного циклу поперечних містків від деформації не дозволяють достатньо точно відтворити експериментальні закономірності механіки розтягування м'язового волокна. Як наслідок, наприклад, в роботі [9] недостатньо точно відтворюється ексцентрична частина залежності сила-швидкість. Адекватне відтворення моделлю режиму розтягування м'яза є важливим. Можна очікувати, що саме у цьому режимі та при ізометричному скороченні, завдяки появі значних деформацій скорочувальних філаментів, наявність еластичності філаментів буде мати найбільший вплив на механіку півсаркомеру.

Нашою основною метою було теоретично розглянути роль еластичності філаментів в роботі скорочувального апарату м'яза в ізотонічному та ізокінетичному режимах. Проаналізувати цю роль в режимах роботи м'язового волокна, що не розглядались в попередніх роботах, більш детально дослідити певні аспекти механізму. Причому модель, що буде використовуватись в дослідженні, має адекватно відтворювати експериментальні дані, які стосуються як скорочення, так і розтягування м'язу. Модель, яку ми використовували в дослідженні, була побудована в рамках підходу, запропонованого в роботі [9]. Модель представляє собою просторово-розподілену стохастичну модель півсаркомеру нанорівня. Вона деталізує стан півсаркомеру до рівня механохімічного стану окремих поперечних містків. Динаміка механохімічних переходів поперечних містків моделюється на основі методу Монте-Карло. В моделі передбачається, що скорочувальні філаменти є еластичними та можуть деформуватись в ході скорочення. Модель враховує

просторову структуру ґратки півсаркомеру, дискретність взаємного розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів на актині.

Для того щоб модель адекватно відтворювала механічні закономірності як скорочення, так і розтягування в ізотонічному та ізокінетичному режимах, параметри механохімічного циклу були обрані нами на основі моделі, запропонованій в роботі [1]. Відповідно до [1], ключову роль в механіці м'язового волокна, що розтягується, відіграють слабозв'язані поперечні містки. Містки в цьому стані діють як «механічний випростувач», що створює велику силу при розтягуванні та малу при скороченні [1]. Перевагою моделі [1] є те що вона не вводить не ідентифікованих біохімічно станів поперечних містків, відтворює як режим скорочення, так і розтягування.

В цьому розділі ми опишемо просторово-розподілену стохастичну модель півсаркомеру. Особливості реалізації симуляції різноманітних режимів роботи півсаркомеру та обробки результатів симуляції.

3.1. Основні положення моделі

Поперечні містки на товстому філаменті та зв'язуючі центри на тонкому організовані в просторі у вигляді спіралей. Поперечні містки та зв'язуючі центри з однаковою азимутальною орієнтацією формують поздовжні ряди, уздовж осі товстого й тонкого філаменту. В області А-смуги саркомеру, кожний товстий філамент оточений певною кількістю тонких філаментів. Для ряду поперечних містків на товстому філаменті є один або більше найближчих до нього рядів зв'язуючих центрів на найближчих тонких філаментах, з якими він здатен взаємодіяти. У моделі розглядається взаємодія одного ряду поперечних містків на товстому філаменті з одним, найближчим до нього, рядом зв'язувальних центрів на актині, рис. 3.1.

Передбачається, що відстань між сусідніми поперечними містками та зв'язувальними центрами в ряді становить l_{mn} та l_{an} відповідно. Всього налічується N поперечних містків та M зв'язувальних центрів. Зліва товстий філамент нерухомо закріплений в M -лінії, актин може переміщатися в поздовжньому напрямку. На Z -

мембрану діє зовнішня сила, рис. 3.1. Актин здатен переміщуватись тільки в поздовжньому напрямку.

Скорочення та генерація сили півсаркомером, результат багатоетапної циклічної взаємодії поперечних містків з актином, під час якої місткі здатні генерувати активну силу. Ця взаємодія та генерація сили сполучені з гідролізом молекули АТФ. Генерація сили окремим поперечним містком виникає внаслідок внутрішніх конформаційних змін моторного домену міозину. Поперечний місток має в своєму складі еластичну частину, ймовірно розташовану між плечем важеля моторного домена та хвостовою частиною, що перебуває в товстому філаменті, рис. 3.1, 3.2. Передбачається, що еластичний елемент поперечного містка поводить себе як лінійна пружина з константою жорсткості k_{cb} .

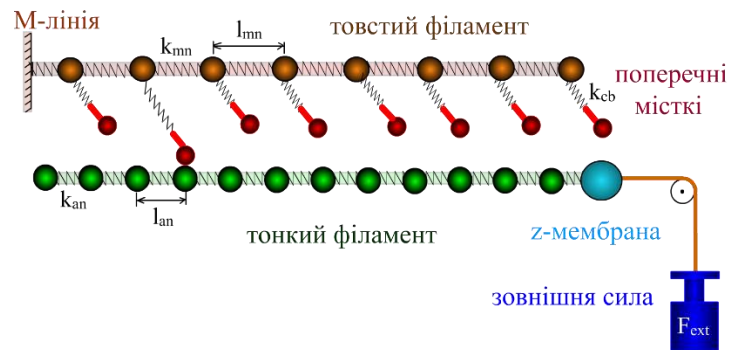


Рис. 3.1. Механічна модель півсаркомеру

Еластичні актин та міозин у моделі представлені як ланцюжки з намистинок, що зв'язані гармонійними пружинками, рис. 3.1, [9]. На кожній намистині міозину розташований поперечний місток, а на кожній намистині актину розташований зв'язувальний центр. 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 нерухомої М-лінії. Остання намистинка актину прикріплена пружинкою із жорсткістю k_{an} до Z-мембрани що здатна рухатись та на яку може діяти зовнішня сила F_{ext} рис. 3.1.

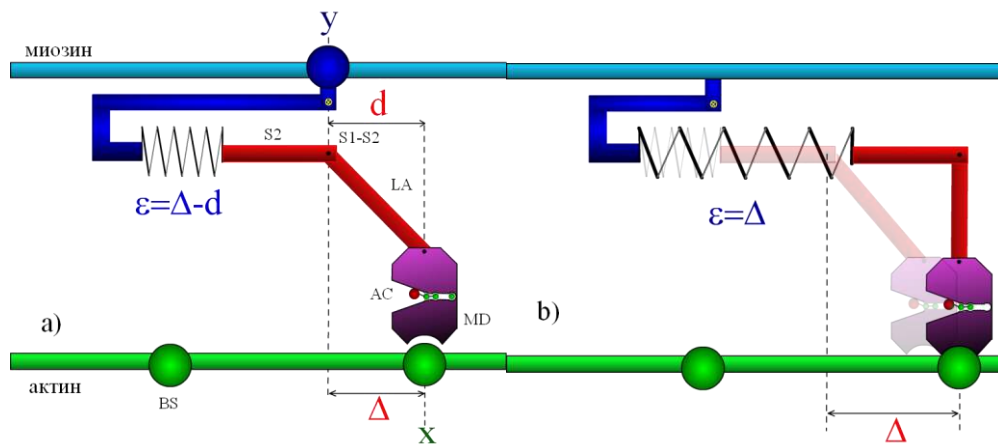


Рис. 3.2. Деформація еластичного елемента ПМ. Еластичний елемент показаний у вигляді пружинки, MD – моторний домен; LA – плече важеля; AC – активний центр; S2 – субфрагмент–2; S1–S2 зчленування субфрагментів-1 та -2; BS – зв’язувальний центр на актині. На рис. а) зображений ПМ у вільному стані, на рис. б) у сильнозв’язаному стані, після виконання ним робочого ходу. Робочий хід це поворот плеча важеля в області його зчленування з моторним доменом, при цьому дистальний кінець плеча важеля зміщується в поздовжньому напрямку на величину d . y – положення місця кріплення S2 до остова товстого філаменту (або рівноважне положення зчленування S1–S2), x – положення зв’язувального центру на актині; Δ визначається як відстань між зчленуванням S1–S2 та зв’язувальним центром на актині, коли еластичний елемент ПМ перебуває в стані спокою. Визначення деформації еластичного елемента залежить від хімічного стану ПМ.

Положення намистинки на нерозтягнутих філаментах у початковий момент часу задаються співвідношеннями:

$$\begin{aligned} y_i(0) &= l_{cb}(i-1), & i &= 1, \dots, N \\ x_j(0) &= x_0 + l_{bs}(j-1) & j &= 1, \dots, M \end{aligned} \quad (3.1)$$

де y_i – положення i -ї міозинової намистинки; x_j – положення j -ї актинової намистинки; x_0 – початкове положення першої намистинки на актині (воно визначає початковий ступінь перекриття актину й міозину).

Відстань Δ_{ij} між місцем кріплення i -го поперечного містка на міозині та j -м зв’язувальним центром на актині визначається як (рис. 3.2):

$$\Delta_{ij} = x_i - y_j \quad (3.2)$$

Зміни положення намистинок будуть відбуватися під дією пружних сил пружин між сусідніми намистинками. А при наявності зв'язаного ПМ між намистинками на товстому й тонкому філаментах, також під дією пружної сили еластичного елементу ПМ. При русі тонкого філаменту силами інерції й в'язкості можна зневажити [9, 22, 119], тому при зміні якої-небудь із сил уся система практично миттєво переходить в новий стан механічної рівноваги. Нове рівноважне положення всіх намистинок може бути знайдене розв'язком системи алгебраїчних рівнянь [9], що описують миттєвий баланс сил N поперечних містків та M зв'язувальних центрів:

$$\mathbf{KZ} = -\mathbf{F} \quad (3.3)$$

де \mathbf{K} – матриця констант жорсткості; \mathbf{Z} – вектор зсувів намистинок на міозині й актині; \mathbf{F} – вектор граничних умов.

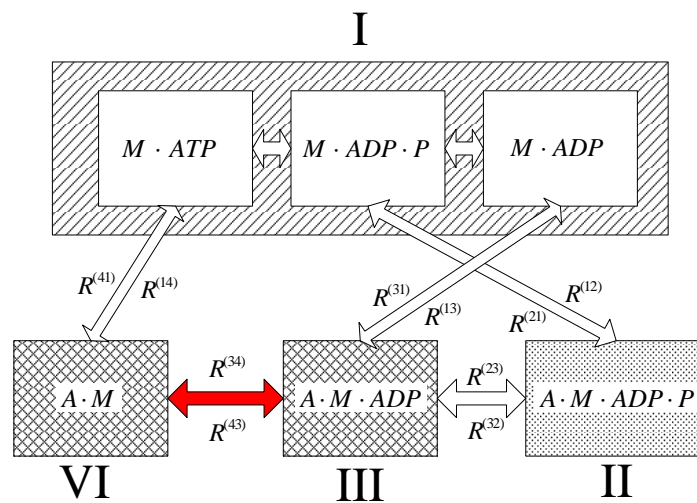


Рис. 3.3. Чотирьохстадійний кінетичний цикл взаємодії актину з міозином: M – міозин; A – актин; $R^{(kl)}$ – константа швидкості переходу між станами k та l .

У моделі розглядається чотири біохімічні стани актоміозинового комплексу [1]: один вільний стан (що поєднує в собі три стани: $M \cdot ATP$, $M \cdot ADP \cdot P$, $M \cdot ADP$), один слабозв'язаний стан ($A \cdot M \cdot ADP \cdot P$) та два сильнозв'язаних стани ($A \cdot M \cdot ADP$, $A \cdot M$). У слабозв'язаному стані ПМ не генерує активної сили. Перехід зі слабозв'язаного стану в сильнозв'язаний супроводжується здійсненням робочого ходу. Схема хімічних реакцій взаємодії міозину з актином показана на рис. 3.3.

Константи швидкості переходів $R^{(kl)}$ між станами k та l цього циклу, а також енергії зв'язаних станів $G^{(k)}$ залежать від деформації еластичного елемента поперечного містка. Вільні енергії для 4-х станів актоміозинового комплексу як функції відстані між містком та зв'язуючи центром мають вигляд:

$$\begin{aligned} G^{(1)}(\Delta_{ij}) &= 0 \\ G^{(2)}(\Delta_{ij}) &= (k_{cb} / 2)(\Delta_{ij} - d)^2 + G_0^{(2)} \\ G^{(k)}(\Delta_{ij}) &= (k_{cb} / 2)\Delta_{ij}^2 + G_0^{(k)}, \quad k = 3, 4 \end{aligned} \quad (3.4)$$

де надрядковими індексами позначені хімічні стани: 1 – $M \cdot ATP, M \cdot ADP \cdot P, M \cdot ADP$; 2 – $A \cdot M \cdot ADP \cdot P$; 3 – $A \cdot M \cdot ADP$; 4 – $A \cdot M$; d – довжина робочого ходу поперечного містка; $G_0^{(k)}$ – вільна енергія ПМ, при нульовій деформації його еластичного елемента. Енергія вільного стану приймається за нуль. Після проходження містком кінетичного циклу в прямому напрямку, енергія всієї системи зменшується на енергію гідролізу однієї молекули ATP . Сила, що генерується i -м містком, пов'язаним з j -м зв'язуючи центром, дорівнює:

$$\begin{aligned} F_{cb}^{(1)}(i, j) &= 0 \\ F_{cb}^{(2)}(i, j) &= k_{cb}(\Delta_{ij} - d) \\ F_{cb}^{(3)}(i, j) &= F_{cb}^{(4)}(i, j) = k_{cb}\Delta_{ij} \end{aligned} \quad (3.5)$$

Деформація $\varepsilon^{(k)}$ еластичного елемента i -го поперечного містка, зв'язаного з j -м зв'язуючи центром, визначається як (рис. 3.2):

$$\begin{aligned} \varepsilon^{(1)} &= \varepsilon^{(2)} = \Delta_{ij} - d \\ \varepsilon^{(3)} &= \varepsilon^{(4)} = \Delta_{ij} \end{aligned} \quad (3.6)$$

Для вільного стану деформація $\varepsilon^{(1)}$ – це відстань, на яку повинна переміститися голівка i -го поперечного містка (під дією теплових флуктуацій) для успішного зв'язування з j -м зв'язуючи центром.

Симуляція змін в часі хімічного стану кожного з поперечних містків здійснювалася методом Монте-Карло. Обчислювальна процедура, що використовувалась для симуляції змін хімічного стану поперечних містків, а також розв'язку системи (3.3) наведені в додатку **A.1**

3.2. Вибір параметрів моделі

Кінетична частина моделі заснована на моделі [1]. Вибір залежностей констант швидкостей від деформацій поперечних містків в цій роботі здійснювався з урахуванням можливості пояснення результатів експериментів з ізокінетичного розтягування м'язового волокна [1]. Для моделювання використовувався підхід, заснований на моделі Хакслі [24], без явного урахування еластичності філаментів. В нашій моделі ці константи швидкостей були модифіковані таким чином, аби стохастична модель дозволяла задовільно описувати експериментальні дані. Зокрема, для переходу $2 \rightarrow 3$ константа швидкості повинна різко зростати, не тільки при скороченні, але і при розтягуванні еластичного елемента містків більше певної величини. Прямі константи швидкості $R^{(kl)}$ для переходу $k \rightarrow l$ мають наступний вигляд:

$$R_{12}(\Delta) = \begin{cases} 10^5 f(\Delta) c^{-1} & (\Delta < 0.7 \text{ нм}) \\ 5 \cdot 10^3 f(\Delta) & (0.7 \leq \Delta < d) \\ 200 f(\Delta) & (d \leq \Delta < 2d) \\ 10^5 f(\Delta) & (\Delta \geq 2d) \end{cases} \quad R_{13}(\Delta) = \begin{cases} 60 c^{-1} & (\Delta \geq 0) \\ 0 & (\Delta < 0) \end{cases}$$

$$f(\Delta) = G_1(\Delta) - G_2(\Delta)$$

$$R_{23}(\Delta) = \begin{cases} 5.5 \cdot 10^3 & (\Delta < 0) \\ 2.7 \cdot 10^3 \exp \left\{ \ln \left(\frac{5.5}{2.7} \right) \left(\frac{2.5 - \Delta}{2.5} \right)^{0.9} \right\} & (0 \leq \Delta < 2.5) \\ 10 & (2.5 \leq \Delta < d) \\ 0 & (\Delta \geq d) \end{cases} \quad R_{34}(\Delta) = \begin{cases} 5 \cdot 10^5 & (\Delta < 0) \\ 1.5 \cdot 10^3 & (0 \leq \Delta < 2) \\ 150 & (2 \leq \Delta < d) \\ 250 & (d \leq \Delta < 5) \\ 5 \cdot 10^4 & (\Delta \geq 5) \end{cases} \quad (3.7)$$

$$R_{41}(\Delta) = \begin{cases} 1.5 \cdot 10^4 & (\Delta < -0.05) \\ 10^4 - 10^5 \Delta & (-0.05 \leq \Delta < 0) \\ 10^4 & (\Delta \geq 0) \end{cases}$$

де відстань Δ задана в нм. Зворотні константи швидкості пов'язані із прямими константами швидкості співвідношенням:

$$R^{(lk)}(\Delta) = R^{(kl)}(\Delta) \exp(G^{(l)}(\Delta) - G^{(k)}(\Delta)) \quad (3.8)$$

Для кожного з станів, відповідно до [1], були використані такі вільні енергії:

$$\begin{aligned}
 G^{(1)}(\Delta_{ij}) &= 0RT \\
 G^{(2)}(\Delta_{ij}) &= (k_{cb} / 2)(\Delta_{ij} - d)^2 - 4.3RT \\
 G^{(3)}(\Delta_{ij}) &= (k_{cb} / 2)\Delta_{ij}^2 - 18.7RT \\
 G^{(4)}(\Delta_{ij}) &= G^{(3)}(\Delta_{ij}) - 2.0RT
 \end{aligned}
 \tag{3.9}$$

де надрядковими індексами позначені наступні стани: 1 – $M \cdot ATP, M \cdot ADP \cdot P$, $M \cdot ADP$; 2 – $A \cdot M \cdot ADP \cdot P$; 3 – $A \cdot M \cdot ADP$; 4 – $A \cdot M$; d – довжина робочого ходу поперечного містка.

На рис. 3.4 залежності констант швидкості та вільної енергії від Δ представлені графічно.

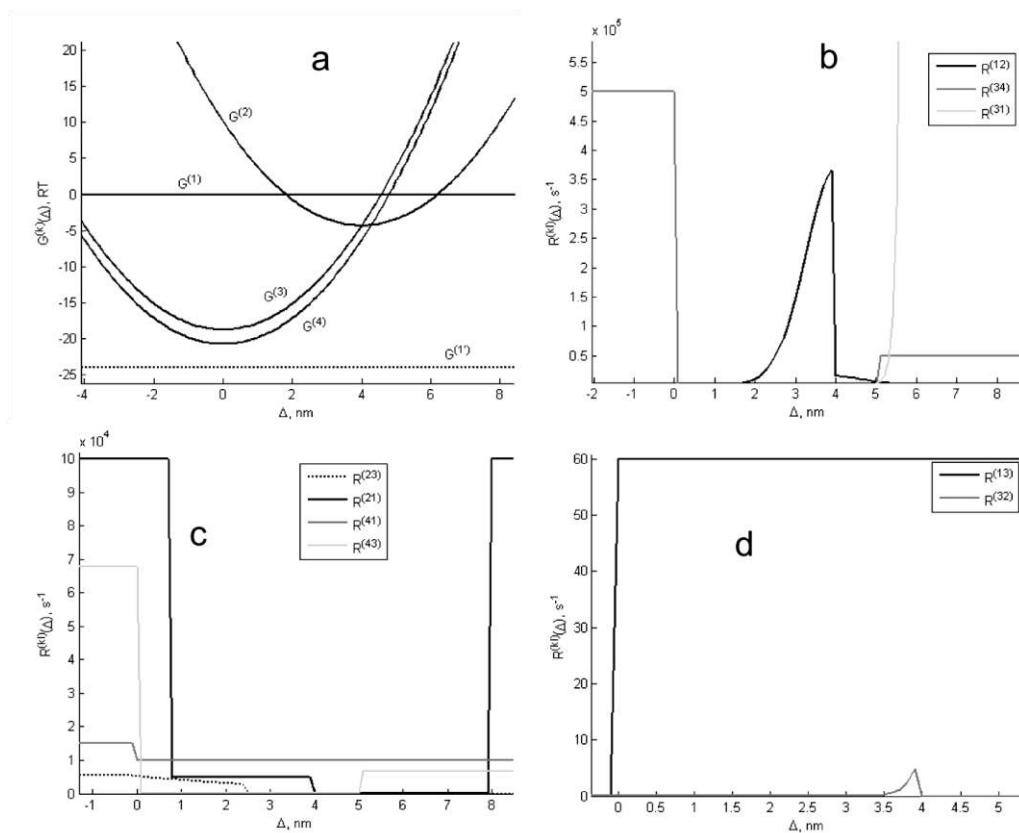


Рис. 3.4. Вільна енергія $G^{(k)}(\Delta)$ актоміозинового комплексу в різних хімічних станах (а) та константи швидкості $R^{(kl)}(\Delta)$, переходів між цими станами (b-d), як функції відстані Δ між поперечним містком і зв'язувальним центром.

Інші параметри, що використовувалися в розрахунках, наведено в таблиці 3.1. Жорсткість скорочувальних філаментів та поперечних містків вибиралася аналогічно [9]. Крок поперечного містка вибирався таким, як у роботі [1]. В симуляціях, які були здійснені в рамках моделі, окрім значень жорсткості

філаментів, що наведені в таблиці 3.1, використовувались значення жорсткості, що є в 10 та 100 разів меншими (відповідно $k_{mn}/10, k_{an}/10$ та $k_{mn}/100, k_{an}/100$), а також з абсолютно жорсткими актином та міозином.

Таблиця 3.1

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	δ	10^{-6} с
l_{mn}	14.3 нм	L_{mn}	0.272 мкм	k_{an}	11818 пН/нм		

3.3. Обчислювальні експерименти та обробка їх результатів

В рамках моделі здійснювалась симуляція ізотонічного та ізометричного скорочення, а також розтягування в ізокінетичному режимі. При цьому реєструвалися його жорсткість, сила, кількість зв'язаних містків та деформації їх еластичних елементів, потоки хімічних переходів поперечних містків між різними хімічними станами, траєкторія переміщення Z-мембрани.

Усі обчислювальні експерименти проводилися для півсаркомеру з абсолютно жорсткими актином та міозином, а також з актином і міозином, що мали жорсткість k_{an} та k_{mn} відповідно (числові значення жорсткості k_{an} та k_{mn} див. в табл. 3.1). Додатково були проведені експерименти з півсаркомерами, жорсткість скорочувальних філаментів яких була зменшена ще на один і два порядки (тобто складала $k_{an}/10, k_{mn}/10$ та $k_{an}/100, k_{mn}/100$). В експериментах з еластичними філаментами реєструвалися їхні поздовжні локальні деформації.

Кількість та деформації зв'язаних ПМ, хімічні потоки. Для поперечних містків в зв'язаному стані k обчислювались емпіричні розподіли їх кількості по деформації їх еластичного елемента $g(\varepsilon^{(k)})$, частка поперечних містків $n^{(k)}$, а також середні значення деформації $\bar{\varepsilon}^{(k)}$. Також для переходів $k \rightarrow m$, отримувались емпіричні розподіли $J^{(km)}(\varepsilon^{(k)})$ хімічних потоків по деформації еластичного елемента

поперечного містка в стані m , хімічних потоків $J^{(km)}$. Згадані величини розраховувались як середнє за часом симуляції. Деталі розрахунків наведені в додатку А.2.

Зсуви Z-мембрани, час між хімічними переходами. Середній час $\langle \Delta t_{hs} \rangle$ між послідовними хімічними змінами в півсаркомері є середнім часом між будь-якими змінами хімічного стану будь-якого з містків. З величини середньої швидкості скорочення півсаркомеру V та часу $\langle \Delta t_{hs} \rangle$ можна знайти середній миттєвий зсув Z-мембрани, який вона здійснює після зміни хімічного стану будь-якого з містків:

$$\langle \Delta x_{hs} \rangle = V \langle \Delta t_{hs} \rangle \quad (3.10)$$

Також були отримані гістограми частоти миттєвих зсувів Z-мембрани, $\Delta x_{hs}^{(kl)}$, після хімічного переходу $k \rightarrow l$ та гістограми зсувів Δx_{hs} після будь-якого хімічного переходу. Δx_{hs} та $\Delta x_{hs}^{(kl)}$ пов'язані як:

$$\Delta x_{hs} = \sum_{k \neq l} \Delta x_{hs}^{(kl)} \quad (3.11)$$

На гістограмах величина частоти влучення в підінтервал ділилася на повний час експерименту та величину підінтервалу.

Залежність величин зсуву Z-мембрани та деформації $\varepsilon^{(k)}$ еластичного елемента містка, що зробив перехід $k \rightarrow l$

На протязі симуляції для будь-якого з переходів $k \rightarrow l$, що ставався, реєструвалися пари значень, деформація поперечного містка $\varepsilon^{(k)}$ перед цим переходом та зсув $\Delta x_{hs}^{(kl)}$ Z-мембрани, що стався після нього. На основі цих даних будувались крапкові діаграми, а також трьохвимірні гістограми $\Delta x_{hs}^{(kl)}(\varepsilon^{(k)})$.

З крапкових діаграм, методом непараметричної регресії, були отримані статистичні залежності $\Delta x_{hs}^{(kl)}(\varepsilon^{(k)})$ - величини зсуву Z-мембрани після зміни хімічного стану $k \rightarrow l$ будь-якого з містків від величини деформації $\varepsilon^{(k)}$ його еластичного елемента. Для цього інтервал можливих значень Δx_{hs} розбивався на підінтервали рівної довжини. Для кожного з підінтервалів підраховувалося середнє за час експерименту значення деформації $\varepsilon^{(k)}$.

Поздовжня деформація скорочувальних філаментів . Для характеристики поздовжніх деформацій скорочувальних філаментів використовувалися наступні величини:

$$\Delta l_i = l_i - l_{ref} \quad (3.12)$$

– середня (тут і далі середнє за часом експерименту) зміна довжини і-ї пружинки скорочувального філаменту; l_i - середня довжина пружинки, l_{ref} - її довжина спокою.

$$\Delta L = \sum_i \Delta l_i \quad (3.13)$$

- середня зміна довжини скорочувального філаменту

$$\theta_i = \frac{\Delta l_i}{l_{ref}} \quad (3.14)$$

- відносна зміна середньої довжини і-ї пружинки (локальні деформації філаментів), $\lambda_i = \theta_i \cdot 100\%$ – на скільки відсотків довжина і-ї пружинки більше її довжини спокою l_{ref}

$$\Theta = \frac{\Delta L}{L_{ref}} \quad (3.15)$$

– відносна зміна середньої довжини скорочувального філаменту; L_{ref} - довжина спокою скорочувального філаменту, $\Lambda = \Theta \cdot 100\%$ – на скільки відсотків середня довжина філаменту більше його довжини спокою L_{ref} .

Жорсткість та сила півсаркомеру. Для визначення жорсткості та сили півсаркомеру в ізотонічному режимі зовнішнє навантаження F_{ext} миттєво змінювалося на ΔF , при цьому розраховувалася зміна ΔL довжини півсаркомеру. Жорсткість півсаркомеру:

$$K_{hs} = \frac{\Delta F}{\Delta L} \quad (3.16)$$

В ізометричному режимі сила півсаркомеру - це сила, з якою він діє на Z-мембрану (в стані рівноваги вона тотожна F_{ext}):

$$F_{hs} = k_{an} \xi_M \quad (3.17)$$

Для визначення жорсткості півсаркомеру в ізометричному режимі його довжина збільшується на ΔL , при цьому обчислюється зміна його сили ΔF_{hs} , жорсткість півсаркомеру розраховувалася згідно (3.16):

Ідентифікація великомасштабних сходинок в траєкторії переміщення Z-мембрани. При ізотонічному скороченні, при навантаженнях близьких до ізометричного, в траєкторії переміщення Z-мембрани спостерігаються великомасштабні сходинок, що утворюються зі сходинок малого розміру (Δx_{hs}). Ідентифікація цих великомасштабних сходинок здійснювалася з використанням вейвлет аналізу (додаток А.3), а також методом, запропонованим в роботі [108].

Симуляція ізокінетичного розтягування. В моделі симуляцію ізокінетичного розтягування ми проводили двома способами. Ми розтягували півсаркомер ізокінетично, переміщуючи тонкий філамент з заданою швидкістю, та ізотонічно, створюючи зовнішнє навантаження, яке розтягує півсаркомер з необхідною швидкістю. В другому випадку, при використанні фіксованого значення зовнішнього навантаження, завдяки випадковості механохімічних переходів поперечних містків, миттєва швидкість ковзання змінюється в часі випадковим чином навколо певного середнього значення, траєкторія буде відхилятися від заданої. Для підтримки постійності швидкості розтягування використовувався цифровий регулятор, який збільшує або зменшує зовнішнє навантаження при відхиленнях траєкторії від заданої. Обидва способи дали однакові результати. Деталі схеми цифрової системи керування та її чисельної реалізації наведені в додатку А.4.

Основні положення цього розділу опубліковані в роботах [120-123]

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ ЕЛАСТИЧНОСТІ СКОРОЧУВАЛЬНИХ ФІЛАМЕНТІВ НА РОБОТУ ПІВСАРКОМЕРУ В СТАЦІОНАРНИХ ТА НЕСТАЦІОНАРНИХ РЕЖИМАХ

В цьому розділі наведені результати симуляції в просторово розподіленій стохастичній моделі, яка була описана в попередньому розділі, роботи півсаркомеру в стаціонарних (ізотонічний режим) та нестаціонарних (ізометричному та ізокінетичному) режимах. Досліджується роль еластичності скорочувальних філаментів та просторової структури півсаркомеру в роботі півсаркомеру в цих режимах.

4.1. Ізотонічне розтягування та скорочення, залежність сила-швидкість.

Залежність швидкість-сила. В результаті симуляції ізотонічного скорочення були отримані концентрична та ексцентрична частини кривої сила-швидкість, рис. 4.1, табл. 4.1, для півсаркомеру з жорсткими та еластичними філаментами. Традиційно, в експериментальних роботах використовується система координат, в якій скорочення - це $V > 0$, а розтягування - $V < 0$, тобто є протилежною до прийнятої в моделі, тому для зручності на рис. 4.1 та на наступних графіках швидкість ковзання актину, що була отримана в моделі, помножена на -1 . Наведені в табл. 4.1 процентільні довірчі інтервали (ДІ) для середньої швидкості V ($n=1000$) оцінювалися методом бутстрепінгу [109, 110].

Залежність сила-швидкість може бути апроксимована двома гіперболами. Одна для концентричної частини, друга для ексцентричної:

$$\begin{cases} V = \frac{b_1(F_{ext}^0 - F_{ext})}{F_{ext} + a_1}, & F_{ext} \leq F_{ext}^0 (V \geq 0) \\ V = \frac{b_2(F_{ext} - F_{ext}^0)}{F_{ext} + a_2}, & F_{ext} > F_{ext}^0 (V < 0) \end{cases} \quad (4.1)$$

де F_{ext} - зовнішня сила, що діє на Z-мембрану; V - швидкість ковзання актину; F_{ext}^0 - ізометрична сила; a_1 , b_1 , a_2 та b_2 - емпіричні параметри. Параметри a_1 та b_1 характеризують кривизну концентричної частини кривої сила-швидкість. Вони співвідносяться як $b_1 = V_{max} a_1 / F_{ext}^0$ (V_{max} - максимальна швидкість скорочення при

$F_{ext} = 0$). Параметр a_1 може бути нормований до ізометричної сили: $a'_1 = a_1 / F_{ext}^0$. Параметри a_2 та b_2 характеризують кривизну ексцентричної частини кривої сила-швидкість. Параметр $a_2 < 0$ - це навантаження розриву, також може бути нормований до ізометричної сили: $a'_2 = a_2 / F_{ext}^0$. b_2 - параметр кривизни.

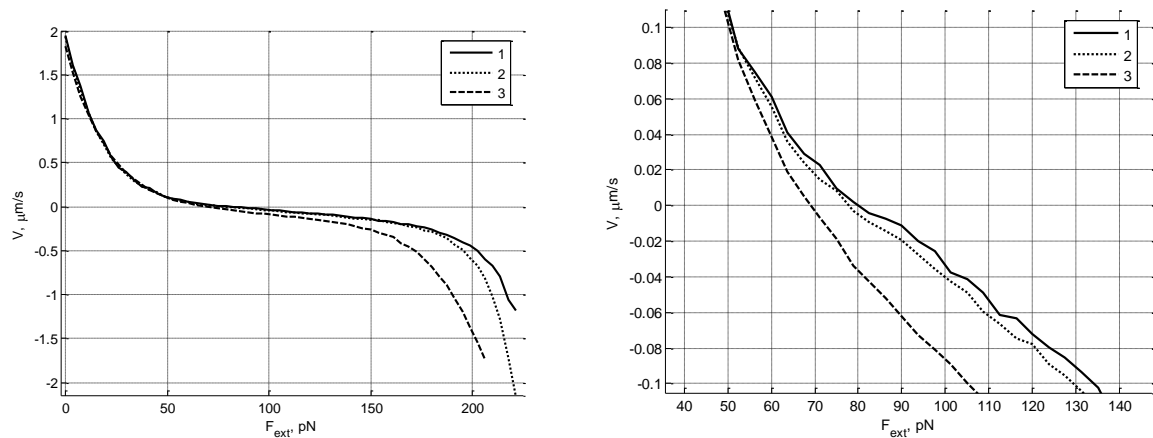


Рис. 4.1. Залежність сила-швидкість для півсаркомеру з жорсткими та еластичними скорочувальними філаментами: крива 1 – абсолютно жорсткі філаменти, 2 – жорсткість філаментів k_{an}, k_{mn} ; 3 – жорсткість філаментів $k_{an}/10, k_{mn}/10$. Кожне значення швидкості, при даному зовнішньому навантаженні, знаходилось як середнє 120 випадкових реалізацій. На графіку $V > 0$ відповідає скороченню, а $V < 0$ розтягуванню півсаркомеру. Лівий графік є збільшеним фрагментом правого в області ізометричного навантаження.

Результати припасування рівняння (4.1) до кривих сила-швидкість, отриманих в моделі (рис. 4.1), та деяких експериментально отриманих кривих сила-швидкість наведені в табл. 4.2 та в табл. 4.3. Параметри кривих сила-швидкість, що були отримані в моделі лежать в межах експериментальних значень. Велике значення a_2 , отримане в моделі, є близьким до значень отриманих в роботі [1].

Таблиця 4.1

Середні швидкості ковзання V та їх 99% довірчі інтервали (ДІ) при різних зовнішніх навантаженнях в півсаркомерах, що мають різну жорсткість скорочувальних філаментів. Жорсткість наведена в одиницях k_{an} та k_{mn} .

F_{ext} , пН	жорсткість філаментів	V , мкм/с	99% ДІ для V	
50	∞	0,1104	0,1077	0,1134
	1	0,1087	0,1058	0,1117
	0,1	0,0842	0,0808	0,0876
100	∞	-0,029	-0,031	-0,028
	1	-0,039	-0,041	-0,038
	0,1	-0,143	-0,145	-0,141
150	∞	-0,133	-0,136	-0,131
	1	-0,151	-0,154	-0,148
	0,1	-0,351	-0,356	-0,346
210	∞	-0,663	-0,679	-0,647
	1	-0,974	-0,996	-0,951
	0,1	-2,125	-2,145	-2,103

Таблиця 4.2

Результати припасування рівняння (4.1) до залежностей сила-швидкість, отриманих у моделі. ПМ – поперечний місток

жорсткість філаментів	V_{max} , мкм/с	F_{ext}^0 , пН	F_{ext}^0 , пН/ПМ	F_{ext}^{-1} , пН	$\frac{F_{ext}^{-1}}{F_{ext}^0}$	a'_1	a'_2	b_2
∞	~2.01	~80.9	~4.05	218.2	2.7	0.1922	-2.968	0.1624
k_{an}, k_{mn}	1.936	77.83	3.89	209.5	2.7	0.2141	-2.9783	0.1644
$0.1k_{an}, 0.1k_{mn}$	1.826	69.1	3.45	190.4	2.75	0.2999	-3.3063	0.2968

Порівняння кривих швидкість-сила для жорсткого та еластичного півсаркомерів (рис. 4.1, табл. 4.1) показує: 1) в обох випадках максимальна швидкість скорочення практично однакова (≈ 2 мкм/с); 2) ізометрична сила F_{ext}^0 виявляється меншою для півсаркомеру з еластичними філаментами; 3) швидкість розтягання півсаркомеру зростає зі збільшенням зовнішнього навантаження швидше у випадку еластичних філаментів (зовнішнє навантаження F_{ext}^{-1} необхідне для розтягання півсаркомеру зі швидкістю 1 мкм/с, зменшується зі збільшенням еластичності скорочувальних філаментів).

Таблиця 4.3

Результати припасування рівняння (4.1) до залежностей сила-швидкість, отриманих експериментально

V_{\max} , мкм/с	F_{ext}^0 , пН/ПМ	F_{ext}^{-1} / F_{ext}^0	a'_1	a'_2	b_2	Температура, °С
Rana esculenta						
8.6	8	1.316	0.28	-1.57	0.81	17°C, [124]
4.66	7	1.617	0.82	-1.81	0.31	11°C, [124]
2.6	5.23	1.989	0.87	-2.09	0.08	4.9°C, [124]
Rana temporaria						
1.8	10 (8.68)		0.46	-1.66	0.027	1°C, [46]
2.1	6 (5.62)		0.39			2.2°C, [46]
4	6.4 (5.09)		0.26			11°C, [46]
6.488	(9.2)		0.55	-1.9414	0.337	2.3°C, [125]
Кролик						
5.9	7		0.57			25°C, [126]
5	8.2		0.29			25°C, [127]
2	4.1		0.23			10°C, [128]
Пацюк						
2.4	7.3		0.056			15°C, [34]

Додатково була розрахована крива швидкість–сила для філаментів із жорсткістю в 10 і 100 раз меншою від значень k_{an} та k_{mn} . Таке зменшення жорсткості філаментів приводило до подальшого зменшення ізометричної сили (рис. 4.1, табл. табл. 4.1). При жорсткості філаментів $0.01k_{an}, 0.01k_{mn}$ також відбувається зменшення максимальної швидкості скорочення.

Кривизна залежностей швидкість-сила для жорсткого й еластичного k_{an}, k_{mn} півсаркомерів практично однакова (табл. 4.2). Тільки десяти- й стократне збільшення еластичності помітно міняє кривизну (табл. 4.2)

Природа форми залежності швидкість-сила. Аналогічно до моделі [1], в нашій моделі основну роль в зростанні сили при розтягуванні та в падінні при скороченні відіграють містки в слабозв'язаному стані, причому, основна причина змін сили - це зміни середньої деформації поперечних містків, а не їх кількості. При розтягуванні їх деформація досягає критичної деформації, після чого вони швидко відриваються, та завдяки великій швидкості зв'язування швидко переприєднуються. При скороченні кінетика слабозв'язаних містків є аналогічною, але вони не генерують значної сили, оскільки величина критичної деформації для негативних деформацій має менше значення. Такий сценарій вирішує проблему необхідності варіювання константи швидкості зв'язування при змінах швидкості скорочення

[129] чи необхідності введення додаткових вільних хімічних станів, в який може перейти місток після відриву при розтягуванні [55, 130].

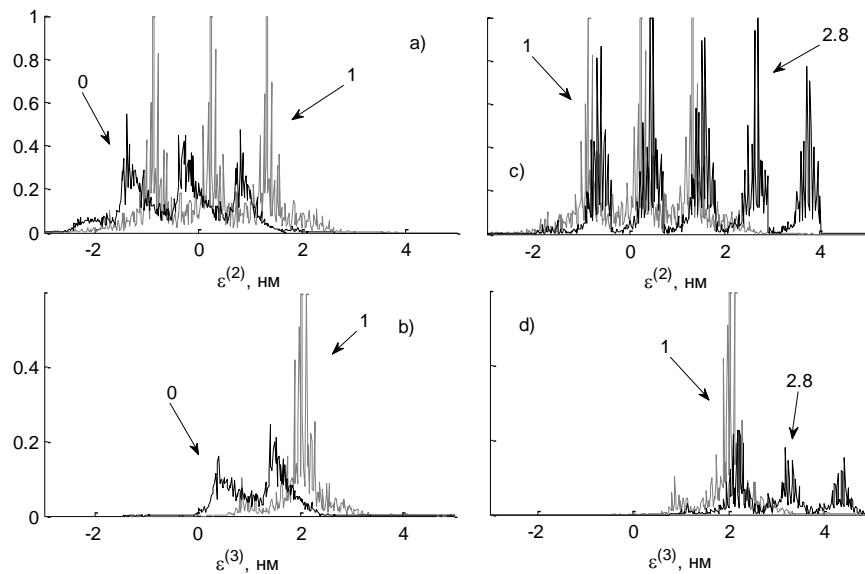


Рис. 4.2. Середні стаціонарні розподіли заселеності містків в слабозв'язаному стані *AMDP* (а, с) та першому сильнозв'язаному *AMD* (b, d) при різних значеннях F_{ext} . Для кожного з розподілів вказано нормоване значення зовнішньої сили (F_{ext} / F_{ext}^0), для якого він був отриманий (0 означає скорочення з максимальною швидкістю, 1 – ізометричний режим, 2.8 – розтягування з великою швидкістю). Площа під кожним з розподілів дорівнює частці містків у даному стані.

Описані зміни середньої деформації та заселеності поперечних містків, при різних зовнішніх навантаженнях в півсаркомері з жорсткими філаментами, можна побачити на рівні розподілів їх заселеності на рис. 4.2. Поведінка розподілів є аналогічною до роботи [1], однак існує істотна відмінність у формі розподілів. Розподіли на рис. 4.2 мають полімодальний характер, причому можна бачити 2-5 глобальних піка, кожен з яких складається з багатьох локальних. Ця особливість пов'язана з дискретністю набору відстаней між зв'язувальними центрами та містками, на відміну від моделі [1], де ця величина є безперервною.

В еластичному півсаркомері зміни розподілів мають аналогічний характер, але самі розподіли стають більш гладкими, великі піки так само присутні, але локальні піки частково згладжуються (рис. 4.3.).

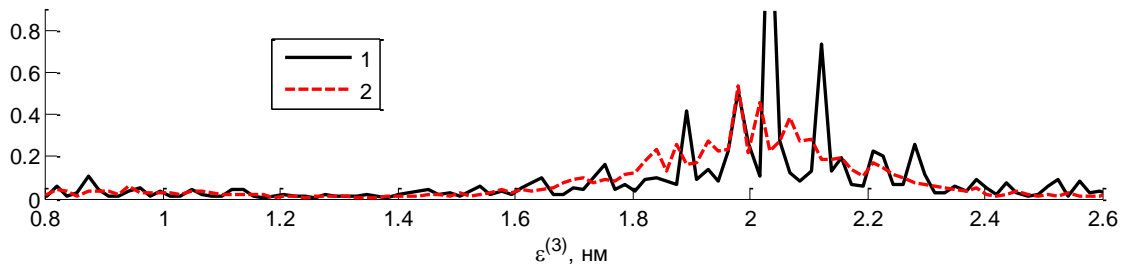


Рис. 4.3. Порівняння середніх стаціонарних розподілів заселеності містків в жорсткому (крива 1) та еластичному (k_{an} , k_{mn}) (крива 2) півсаркомерах в стані *AMD* в ізометричному режимі.

Деформації скорочувальних філаментів. Яким саме чином наявність еластичності призводить до таких змін залежності швидкість - сила? Первинною видимою причиною відмінностей механічних властивостей півсаркомеру із жорсткими та еластичними філаментами, очевидно, буде наявність в останнього деформацій скорочувальних філаментів. На рис. 4.4 показані середні локальні деформації (λ_i) тонкого та товстого філаментів, еластичного півсаркомеру (k_{an}, k_{mn}) при різних значеннях F_{ext} . При нульовому зовнішньому навантаженні філаменти практично не деформовані та поведуться як жорсткі. Помітні деформації філаментів виникають в ізометричному режимі та при розтягуванні. Локальні деформації міозину збільшуються справа наліво (рис. 4.4). Локальні деформації актину збільшуються зліва направо у межах зони перекриття актину й міозину. Ліворуч від цієї зони актин не деформований, праворуч локальні деформації максимальні (рис. 4.4).

Нерівномірність деформацій скорочувальних філаментів уздовж їхньої довжини виникає завдяки силам зв'язаних поперечних містків. У місцях зв'язування з актином містки створюють силу, спрямовану проти сили зовнішнього навантаження F_{ext} . З цієї причини локальні деформації актину зменшуються в напрямку М-смуги. У випадку з товстим філаментом, навпаки, сила містків діє в одному напрямку з зовнішньою силою F_{ext} . Кожна з ділянок міозину деформується сумарною силою розташованих після цієї ділянки поперечних містків, зв'язаних з актином. Таким чином, локальні деформації міозину збільшуються в напрямку до

М-смуги. Зростання локальних деформацій уздовж актину відбувається східчасто. Підйоми сходинки виникають в місцях зв'язувань містків.

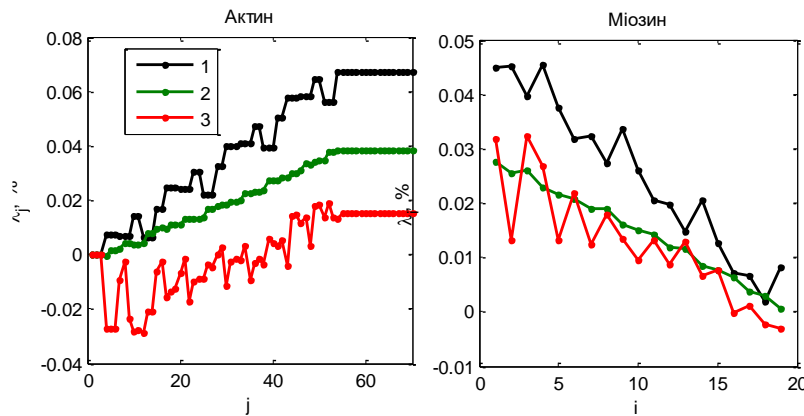


Рис. 4.4. Середні локальні деформації еластичних скорочувальних філаментів різної жорсткості (k_{an}, k_{mn} - крива 1; $k_{an}/10, k_{mn}/10$ - крива 2; $k_{an}/100, k_{mn}/100$ - крива 3) в ізометричному режимі. По осі абсцис відкладені номери мономерів (пружинка між двома намистинками філаменту), по осі ординат - на скільки відсотків їх довжина змінилася від початкової, ($\bar{\lambda}_j$). $\bar{\lambda}_j$ для актину й міозину із жорсткістю $k_{an}/10, k_{mn}/10$ та $k_{an}/100, k_{mn}/100$ були поділені на 10.

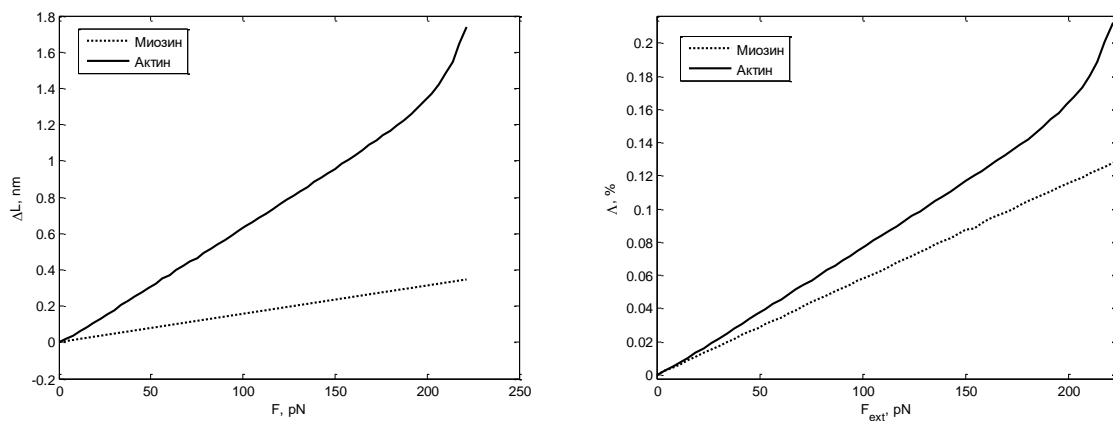


Рис. 4.5. Залежність зміни довжини еластичних скорочувальних філаментів (k_{an}, k_{mn}) від зовнішнього навантаження: а) абсолютне значення середньої зміни довжини $\Delta\bar{L}$; б) зміна \bar{L} середньої довжини відносно його довжини спокою.

На рис. 4.5 показано, як міняється середня довжина еластичних філаментів в залежності від зовнішнього навантаження. Видно, що з ростом зовнішнього навантаження довжина актину збільшується нелінійно, тоді як збільшення

деформації міозину практично лінійне. Деформації присутні як при скорочуванні, так і при розтягуванні.

Деформації філаментів при їх жорсткості k_{an} , k_{mn} в моделі були в 4 – 5 разів меншими за експериментальні (~0.25-0.31%, див. розділ 1.1.1). Одна з причин такого відхилення може бути в тому, що в моделі з тонким філаментом взаємодіє лише один ряд поперечних містків [9]. Також еластичність може залежати від рівня активації, в присутності кальцію жорсткість тонкого філаменту може зменшуватись приблизно в 3 рази [9]. Значно ближчими до експерименту значення деформацій були в півсаркомері з жорсткістю філаментів $k_{an}/10, k_{mn}/10$.

Середня деформація та кількості зв'язаних містків. Оскільки кінетичні переходи поперечних містків залежать від деформації їх еластичного елемента (яка в свою чергу залежить від відстані між містком та зв'язувальним центром), можна очікувати, що зміни ґратки півсаркомеру, викликані деформаціями скорочувальних філаментів, будуть призводити до змін хімічних потоків та кількості зв'язаних поперечних містків.

В півсаркомерах з еластичними філаментами, при великих зовнішніх навантаженнях, відбувається збільшення кількості зв'язаних поперечних містків, рис. 4.6,б. Середня деформація еластичного елемента обчислена для всіх зв'язаних поперечних містків є однаковою, рис. 4.6, а.

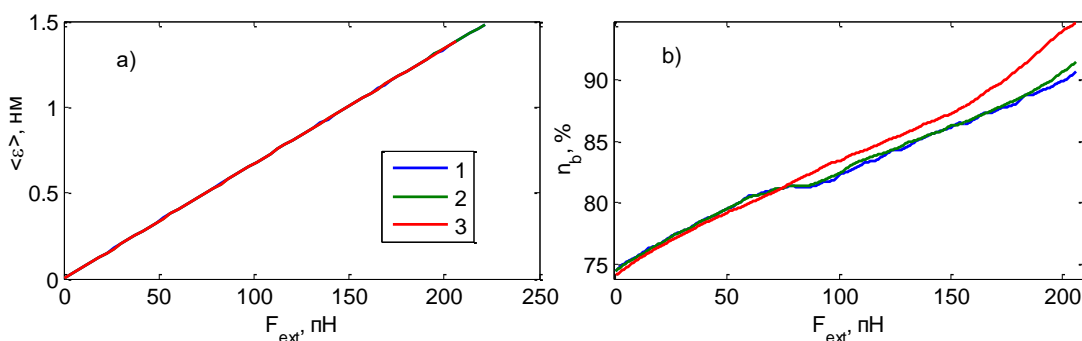


Рис. 4.6. Залежність середньої деформації $\langle \epsilon \rangle$ поперечних містків (а) та частки n_b зв'язаних містків (б) від зовнішнього навантаження: криві 1 – півсаркомер з абсолютно жорсткими філаментами; криві 2 – жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} ; 3 – жорсткість філаментів $k_{an}/10$, $k_{mn}/10$. Зміни деформацій зв'язаних містків в

еластичних півсаркомерах стають помітними, якщо розглянути середні деформації містків в окремих хімічних станах, рис. 4.7,а. Найбільших змін зазнає середня деформація слабозв'язаних містків ($\langle \varepsilon_2 \rangle$), рис. 4.7,а. Загалом на великих швидкостях відбувається збільшення деформації поперечних містків (окрім $\langle \varepsilon_3 \rangle$ півсаркомеру з k_{an} , k_{mn} , тут зміни не помітні). Так само, на відміну від загальної заселеності, відмінність окремих компонент заселеності більш помітна, рис. 4.7,б. Причому окремі компоненти заселеності ведуть себе по різному, кількість слабозв'язаних містків збільшується, сильно зв'язаних зменшується.

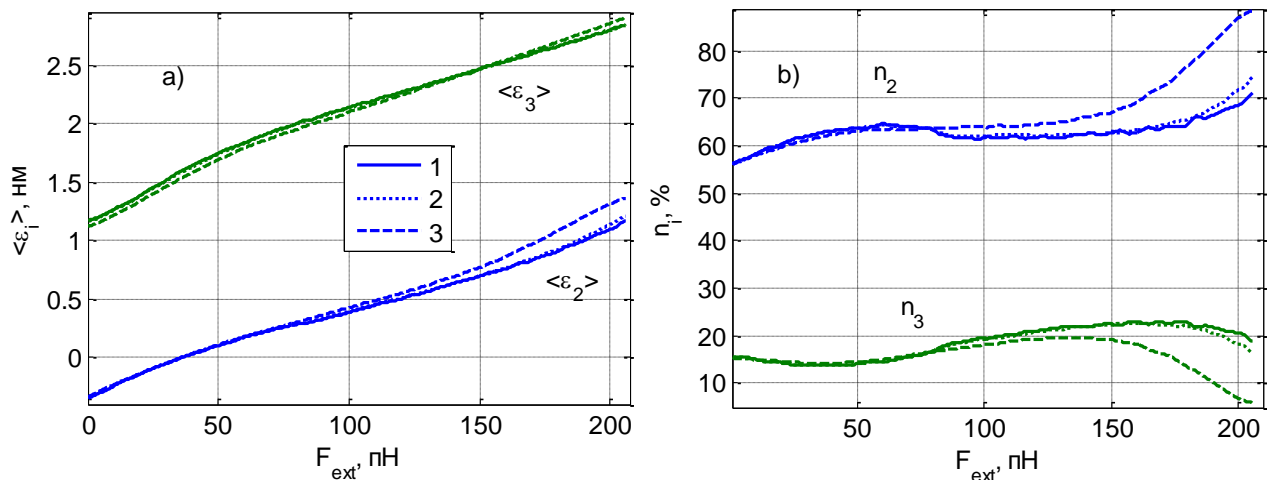


Рис. 4.7. Залежність а) середньої деформації поперечних містків в слабо ($\langle \varepsilon_2 \rangle$) та сильнозв'язаному станах ($\langle \varepsilon_3 \rangle$) та б) частки зв'язаних містків в цих станах (n_2 та n_3 відповідно) від зовнішнього навантаження в півсаркомерах з різною жорсткістю міофіламентів: криві 1 – півсаркомер з абсолютно жорсткими філаментами; криві 2 – жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} ; 3 – жорсткість філаментів $k_{an}/10$, $k_{mn}/10$.

Незмінність середньої деформації еластичних елементів всіх зв'язаних містків між півсаркомерами різної жорсткості є результатом скорельованого перерозподілу деформацій та заселеності між містками в різних хімічних станах:

$$\langle \varepsilon \rangle = n_2 \langle \varepsilon_2 \rangle + n_3 \langle \varepsilon_3 \rangle + n_4 \langle \varepsilon_4 \rangle \quad (4.2)$$

Так, на великих швидкостях розтягування, хоча слабо зв'язаних містків стає більше (n_2) і їх еластичний елемент більш розтягнутий ($\langle \varepsilon_2 \rangle$), деформація сильно

зв'язаних містків ($\langle \varepsilon_3 \rangle$) також збільшується, але не так сильно, натомість їхня чисельність (n_3) істотно зменшується.

Жорсткість півсаркомеру. У випадку півсаркомеру з жорсткими філаментами, його жорсткість K_{hs} буде залежати тільки від кількості N_b зв'язаних поперечних містків: $K_{hs} = N_b k_{cb}$. При наявності розтягливості жорсткість півсаркомеру можна умовно розкласти на жорсткість області перекриття (K_o) та жорсткість послідовного еластичного елемента (ПЕЕ), K_{SE} . В цьому випадку жорсткість півсаркомеру буде складати: $K_{hs} = K_{SE} K_o / (K_{SE} + K_o)$. ПЕЕ буде відповідати частина міозинового філаменту голої зони (≈ 100 нм) і частина актинового філаменту між зоною перекриття та Z-лінією (≈ 300 нм). Довжину ПЕЕ можна вважати постійною, якщо скорочення чи розтягування тривають не довго (в [1] рампове розтягнення триває ~ 10 мс). З урахуванням прийнятих в нашій моделі жорсткостей товстих та тонких філаментів, жорсткість ПЕЕ буде складати $K_{SE} = 0.17$ Н/м. На рис. 4.8 показані жорсткості півсаркомерів з жорсткими та еластичними філаментами в ізотонічному режимі при різних зовнішніх навантаженнях. Видно, що хоча в цих півсаркомерах кількість зв'язаних поперечних містків майже однакова (див. рис. 4.6 b, а також криві 1 та 4 на рис. 4.8), жорсткість півсаркомеру з еластичними півсаркомерами як мінімум в 1.5 рази менша. Також жорсткість області перекриття в цьому півсаркомері є меншою за сумарну жорсткість усіх зв'язаних поперечних містків, рис. 4.8.

Жорсткість області перекриття буде залежати від трьох факторів: жорсткості скорочувальних філаментів, кількості зв'язаних поперечних містків та їх розташування вздовж області перекриття. Для того, щоб дослідити, як жорсткість області перекриття та півсаркомеру залежить від цих факторів, була створена спрощена модель, яка має таку саму механічну частину, як поточна модель півсаркомеру. Кінетична частина в цій моделі відсутня, окремі поперечні містки розглядались або як вільні, або як зв'язані. Вхідним параметром моделі була середня частка \bar{n}_b зв'язаних містків. Жорсткість півсаркомеру знаходилась як середнє по різних випадкових реалізаціях його стану для заданої середньої кількості зв'язаних

містків. В кожній реалізації випадково обирались частка зв'язаних містків $n_b \sim \mathcal{N}(\bar{n}_b, 0.2^2)$ та їх розташування вздовж товстого філаменту. Результати спрощеної моделі добре узгоджуються з результатами стохастичної моделі, рис. 4.8. Варіабельність жорсткості між різними реалізаціями (рис. 4.8, крива 5), головним чином, походить від варіювання n_b , тоді, як розташовані ці зв'язані містки, впливає на значення жорсткості значно менше.

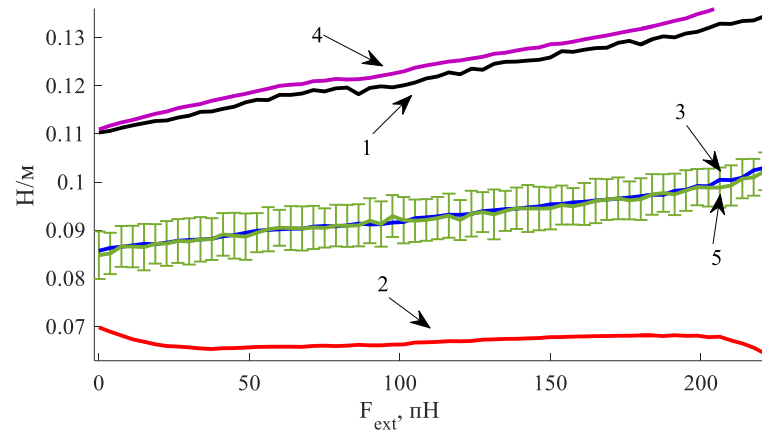


Рис. 4.8. Жорсткість півсаркомерів K_{hs} з жорсткими (крива 1) та еластичними філаментами (крива 2, жорсткість філаментів (k_{an} , k_{mn})) в ізотонічному режимі. Для півсаркомеру з еластичними філаментами також наведена жорсткість області перекриття K_o (крива 3) та сумарна жорсткість зв'язаних поперечних містків $N_b k_{cb}$ (крива 4). Для порівняння наведений результат розрахунку жорсткості області перекриття в спрощеній моделі (крива 5), параметр \bar{n}_b в цій моделі дорівнював заселеності, що була отримана в основній моделі при різних зовнішніх навантаженнях (рис. 4.6 b). Похибка показує степінь варіювання жорсткості від випадкових змін кількості зв'язаних містків та їх розташування вздовж товстого філаменту.

В спрощеній моделі була розрахована залежність жорсткості півсаркомеру з еластичними філаментами від кількості зв'язаних містків, рис. 4.9. Як видно з рис. 4.9, на відміну від сумарної жорсткості зв'язаних поперечних містків, жорсткість області перекриття та всього півсаркомеру нелінійно залежать від кількості зв'язаних містків. При збільшенні загальної кількості поперечних містків втричі, ця

нелінійність буде ставати ще більшою. Наявність різниці між сумарною жорсткістю зв'язаних поперечних містків та жорсткості області перекриття має враховуватись при інтерпретації результатів експериментів, в яких здійснюється вимірювання жорсткості м'язових волокон та оцінка фракції зв'язаних містків.

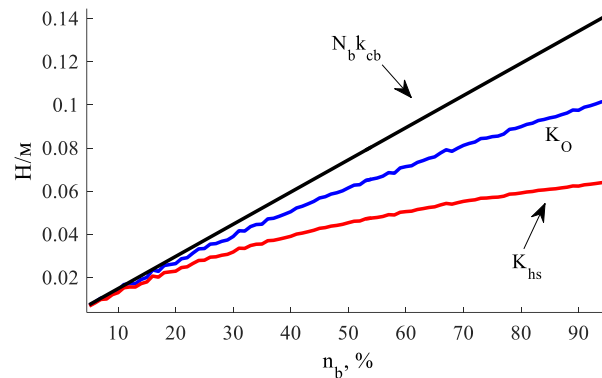


Рис. 4.9. Залежність жорсткість області перекриття (K_o) та півсаркомеру (K_{hs}) від частки зв'язаних поперечних містків, розраховані в спрощеній моделі для півсаркомеру з еластичними філаментами (k_{an} , k_{mn}). Загальна кількість поперечних містків $N=20$. Для порівняння також показана сумарна жорсткість зв'язаних містків ($N_b k_{cb}$).

Хімічні потоки. Зміни деформацій поперечних містків впливають на заселеність через зміни кінетики взаємодій міозину з актином. На рис. 4.10 показані середні хімічні потоки при різних зовнішніх навантаженнях в півсаркомерах з жорсткими та еластичними філаментами. Найбільших змін зазнають потоки між вільним та слабозв'язаними станами ($1 \rightleftharpoons 2$) та переходи, що сполучені з виконанням робочого ходу ($2 \rightarrow 3$). Переходи $1 \rightleftharpoons 2$ в еластичному півсаркомері, при навантаженнях більше ізометричного, відбуваються частіше, чим в жорсткому (рис. 4.10, таблиця 4.4). Так само, в еластичному півсаркомері переходи $2 \rightarrow 3$ й $3 \rightarrow 4$ спочатку відбуваються частіше, а потім з подальшим ростом навантаження їх частота стає меншою.

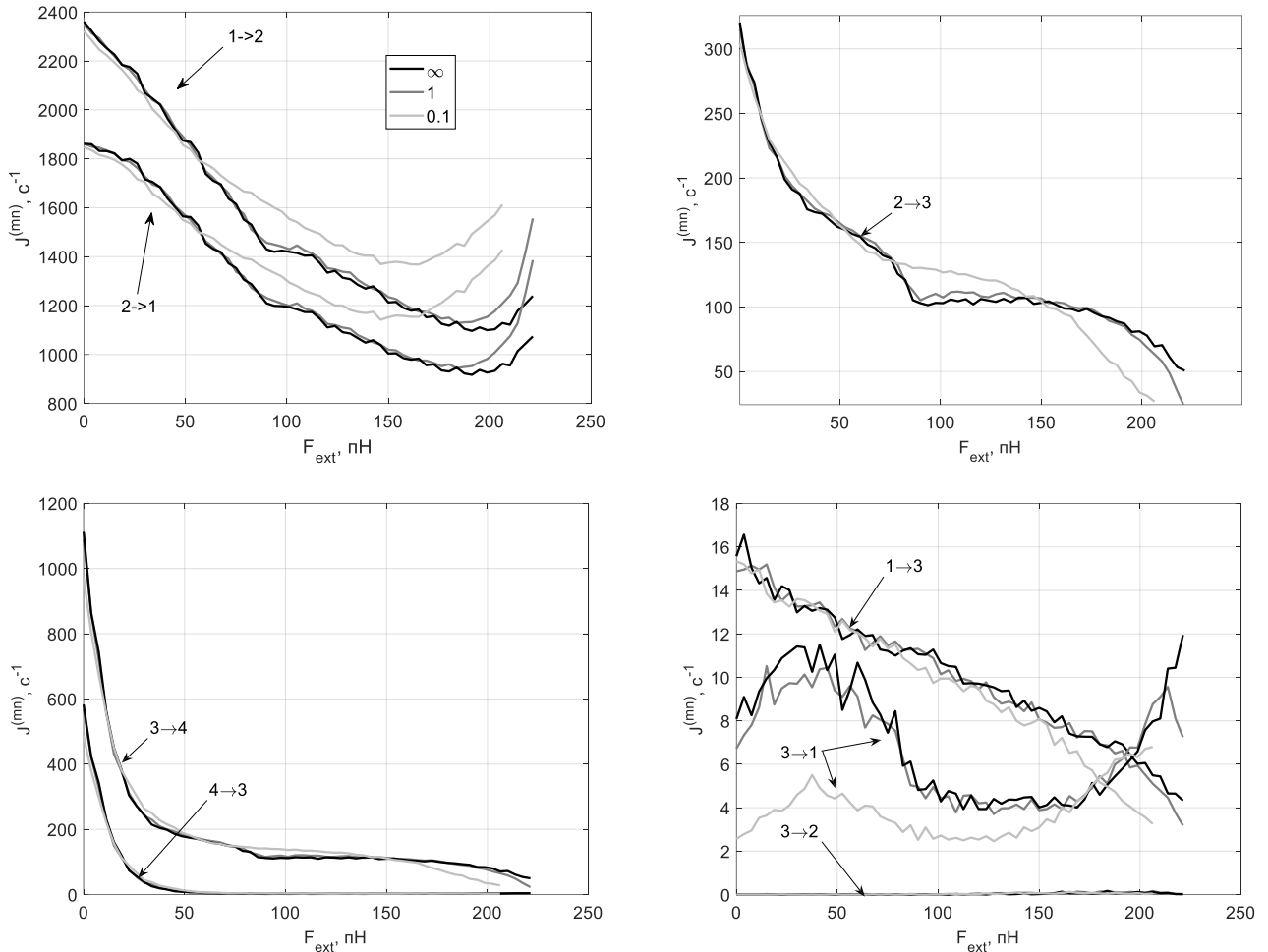


Рис. 4.10. Залежність потоків $J^{(km)}$ переходів $k \rightarrow m$ від зовнішнього навантаження: жорсткий півсаркомер (сіра крива); еластичний півсаркомер (сірі криві $-k_{an}$, k_{mn} ; світло сірі криві $-k_{an}/10$, $k_{mn}/10$)

Загалом зміни потоків в еластичних півсаркомерах приблизно виглядають як стискання залежностей $J^{mn}(F_{ext})$ вздовж осі ординат. Тобто значення потоків, що спостерігаються в півсаркомері з жорсткими філаментами при певному значенні F_{ext} , в півсаркомері з еластичними філаментами буде спостерігатись при меншому значенні зовнішнього навантаження.

На рис. 4.11 та рис. 4.12 для різних містків показані усереднені за час експерименту значення хімічних потоків $J^{(km)}$. Видно, що частота хімічних переходів просторово неоднорідна, причому, для деяких потоків ця неоднорідність має періодичний характер. Наприклад, для переходів $1 \rightleftharpoons 2$ в еластичному півсаркомері при зовнішньому навантаженні 210 пН період приблизно становить 5

поперечних містків. У випадку півсаркомеру з еластичними філаментами ця негомогенність стає менш вираженою, рис. 4.12.

Таблиця 4.4

Значення хімічних потоків в півсаркомерах з міофіламентів, що мають різну жорсткість (в стовпчику жорсткість значення inf позначає абсолютно жорсткі філаменти, 1 та 0.1 – жорсткість k_{an} , k_{mn} та $k_{an}/10$, $k_{mn}/10$ відповідно)

		F_{ext} , нН											
		50			100			150			210		
m->n	жорсткість	J_{mn} 1/c	99% ДІ для J_{mn}		J_{mn} 1/c	99% ДІ для J_{mn}		J_{mn} 1/c	99% ДІ для J_{mn}		J_{mn} 1/c	99% ДІ для J_{mn}	
1->2	inf	1728,9	1725,5	1732,3	1284,1	1279,5	1288,6	1099,0	1094,5	1103,5	1011,3	1005,1	1017,5
	1	1721,5	1718,1	1724,9	1305,3	1300,8	1309,9	1120,5	1116,0	1125,0	1102,2	1095,0	1109,6
	0,1	1704,3	1701,5	1707,0	1422,9	1419,5	1426,3	1244,2	1239,6	1248,8	1448,5	1443,5	1453,4
2->1	Inf	1568,2	1564,8	1571,6	1183,7	1179,6	1187,8	995,0	990,5	999,4	938,7	931,8	945,8
	1	1557,7	1554,3	1561,1	1197,9	1193,8	1202,0	1012,9	1008,4	1017,5	1039,7	1031,7	1047,7
	0,1	1542,0	1539,4	1544,6	1294,7	1291,2	1298,2	1137,6	1132,4	1142,7	1418,4	1413,0	1423,7
2->3	Inf	159,9	159,4	160,5	99,8	98,7	100,9	103,5	102,8	104,2	71,0	70,1	71,9
	1	163,0	162,4	163,6	106,8	105,8	107,8	107,0	106,3	107,6	60,4	59,3	61,5
	0,1	161,6	160,9	162,3	127,4	126,8	128,1	105,5	104,7	106,4	26,6	26,0	27,2
3->4	Inf	175,6	174,7	176,4	110,3	109,2	111,3	111,3	110,6	112,1	73,9	72,9	74,9
	1	179,4	178,5	180,2	117,5	116,5	118,5	114,9	114,2	115,6	62,8	61,6	63,9
	0,1	183,5	182,4	184,6	139,0	138,3	139,7	113,7	112,8	114,6	28,3	27,7	29,0
4->1	Inf	167,6	167,0	168,1	108,1	107,1	109,1	109,2	108,5	110,0	70,1	69,0	71,1
	1	170,8	170,2	171,4	115,1	114,1	116,0	112,6	111,9	113,3	58,9	57,7	60,1
	0,1	171,6	170,9	172,3	135,7	135,0	136,3	110,9	110,0	111,8	25,6	25,0	26,3

Природа форми та відмінності залежності швидкість-сила в жорсткому та еластичному півсаркомерах: траєкторія переміщення актину. Розглянуті вище чинники не дають безпосереднього розуміння, чому при однаковому зовнішньому навантаженні в півсаркомері з еластичними філаментами змінюється швидкість ковзання. Для того щоб зрозуміти, яким чином на швидкість ковзання можуть впливати локальні деформації ґратки і пов'язані з ними зміни кінетики та заселеності поперечних містків, слід більш детально розглянути, яким саме чином відбувається процес ковзання скорочувальних філаментів в ізотонічному режимі.

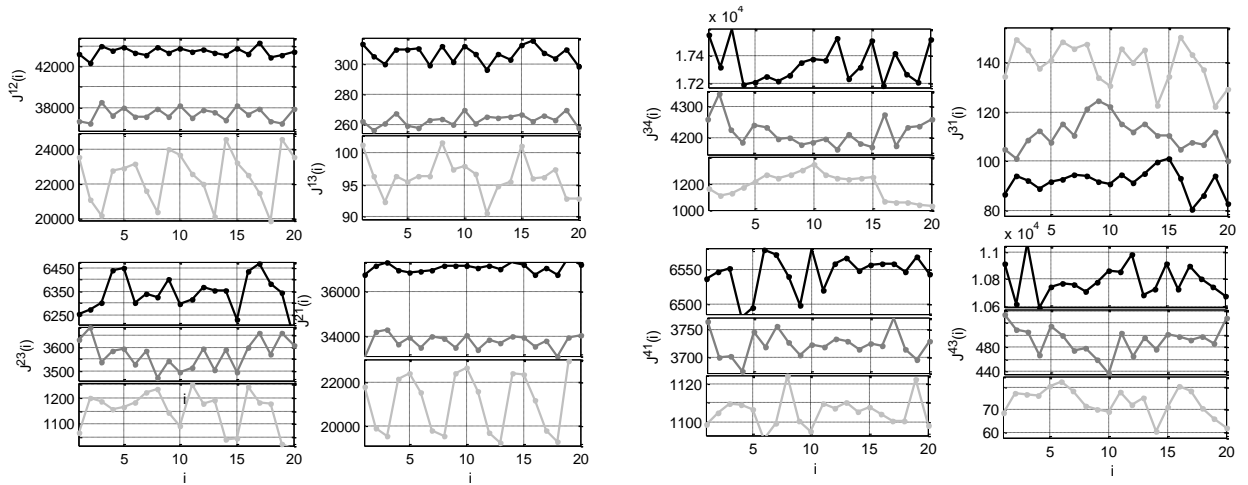


Рис. 4.11. Залежність потоків $J^{(km)}(i)$ переходів $k \rightarrow m$ від номеру i поперечного містка при зовнішньому навантаженні 0 пН (чорна крива), 35 пН (сіра крива) і 210 пН (світло сіра крива) для еластичного півсаркомеру. Кожна крива отримана усередненням результатів із $3 \cdot 10^4$ чисельних експериментів.

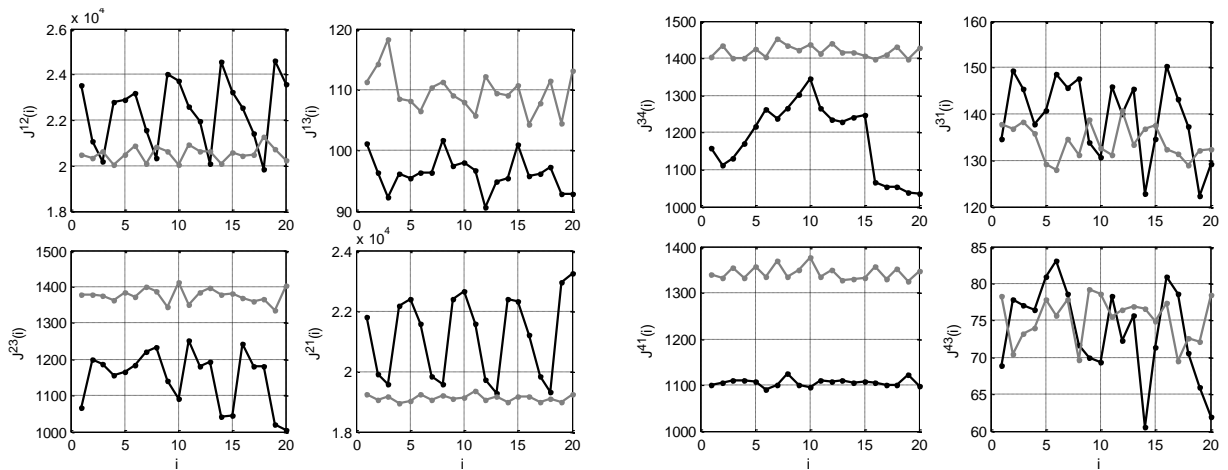


Рис. 4.12. Залежність потоків $J^{(km)}(i)$ переходів $k \rightarrow m$ від номера i поперечного містка при зовнішньому навантаженні 210 пН для жорсткого (чорна крива) та еластичного (сіра крива) півсаркомерів.

В ізотонічному режимі переміщення півсаркомеру відбувається миттєвими стрибками, напрямом і величиною (Δx_{hs}) яких випадкові, рис. 4.13. В нашій моделі $\Delta x_{hs} < 0$ означає скорочення, а $\Delta x_{hs} > 0$ розтягування півсаркомеру. Більшу частину часу Z-мембрана залишається нерухомою. Інтервал часу, що проходить між двома послідовними стрибками, складає Δt_{hs} і також є випадковою величиною. Стрибки виникають внаслідок порушення механічної рівноваги після змін хімічного стану

котрогось з містків. Оскільки переміщення філаментів в цитоплазмі здійснюється з зневажливо малою інерцією і тертям [22], встановлення нового положення рівноваги відбуваються практично миттєво. Середній час досягнення нового положення механічної рівноваги на кілька порядків менше середнього часу $\langle \Delta t_{hs} \rangle$ між змінами хімічних станів містків, тому більшу частину часу актин залишається нерухомим.

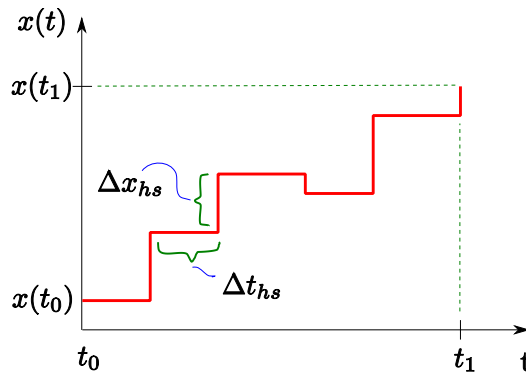


Рис. 4.13. Ілюстрація траєкторії переміщення Z-мембрани в ізотонічному режимі. Z-мембрана переміщується миттєвими стрибками з випадковою величиною Δx_{hs} , більшу ж частину часу Z-мембрана залишається нерухомою. Проміжок часу між випадковими зміщеннями Δt_{hs} - також випадкова величина.

Для ковзання півсаркомеру, що тривало між моментами часу t_0 та t_1 (рис. 4.13), середня швидкість скорочення півсаркомеру:

$$V = \frac{x(t_1) - x(t_0)}{t_1 - t_0} \equiv \frac{\langle \Delta x_{hs} \rangle}{\langle \Delta t_{hs} \rangle} \quad (4.3)$$

На рис. 4.14 показані залежності величин $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ та $\langle \Delta t_{hs} \rangle$ від величини зовнішнього навантаження. Форма залежності кривої сила-швидкість обумовлена, головним чином, змінами величини $\langle \Delta x_{hs} \rangle$.

Порівняння півсаркомерів з жорсткими та еластичними філаментами (рис. 4.14, таблиця 4.5) показує, що при середніх та великих зовнішніх навантаженнях у півсаркомері з еластичними філаментами: 1) $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ має більше значення; 2) хімічні зміни містків відбуваються швидше. Відмінність кривих сила-швидкість обумовлена змінами обох факторів, зміною величини $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ та $\langle \Delta t_{hs} \rangle$, однак основний вклад

дають зміни $\langle \Delta x_{hs} \rangle$. Так, якщо порівняти півсаркомери з еластичними філаментами (k_{an} , k_{mn}) та жорсткими при навантаженні 200пН, у випадку еластичних філаментів швидкість розтягування збільшується в 1.33 рази, величина $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ збільшується в 1.28 раз, тоді як величина $1/\langle \Delta t_{hs} \rangle$ в 1.04 рази. У випадку філаментів ($k_{an}/10$, $k_{mn}/10$) ці збільшення будуть складати 3.11, 2.39 та 1.3 відповідно.

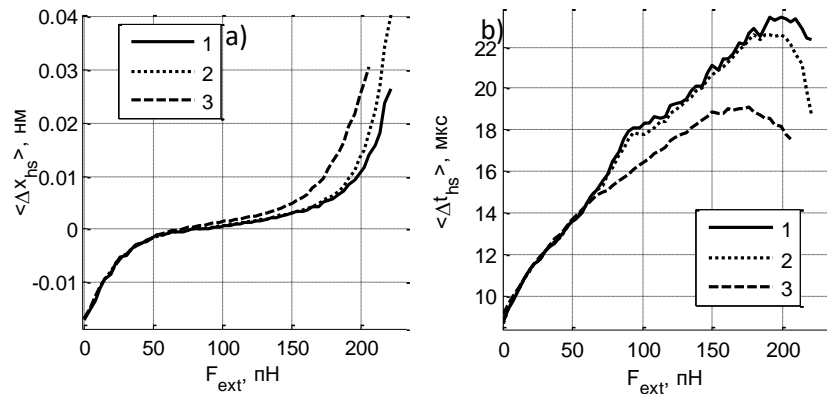


Рис. 4.14. Залежність від зовнішнього навантаження: а) середнього миттєвого зміщення Z-мембрани $\langle \Delta x_{hs} \rangle$, після зміни хімічного стану будь-якого з містків та б) середнього часу між послідовними хімічними змінами в півсаркомері $\langle \Delta t_{hs} \rangle$. Криві позначені номером 1 - півсаркомер з абсолютно жорсткими філаментами; 2 - жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} ; 3 - жорсткість філаментів, $k_{an}/10$, $k_{mn}/10$. Позитивні $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ відповідають розтягуванню півсаркомеру, негативні - його скороченню.

Тривалість пауз $\langle \Delta t_{hs} \rangle$ визначається кінетикою. Розмір середньої сходинок $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ хоча і є усередненою механічною реакцією на зміну деформації містка та/чи на зміну жорсткості півсаркомеру (при приєднанні чи відриванні містка), також залежить від кінетики (середнє $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ враховує реалізації Δx_{hs} , що мають різні знаки та різні амплітуди, а отже залежить від співвідношення їх частот). В еластичному півсаркомері може змінюватись не тільки кінетика, але і механічна реакція на конфірмаційні зміни окремого містка (приєднання/відриви містків чи виконання робочого ходу будуть призводити до виникнення Δx_{hs}). Далі ми з'ясуємо, завдяки

чому змінюється $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ в еластичних півсаркомерах при їх розтягуванні з великим зовнішнім навантаженням.

Таблиця 4.5

Значення $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ та їх 99% довірчі інтервали в півсаркомерах з різною жорсткістю філаментів

F_{ext} , пН	жорсткість філаментів	$\langle \Delta x_{hs} \rangle 10^{-3}$, нм	99% ДІ для $\langle \Delta x_{hs} \rangle 10^{-3}$	
50	∞	-1,46811	-1,51438	-1,42166
	1	-1,45252	-1,49967	-1,40556
	0,1	-1,57991	-1,63196	-1,52804
100	∞	0,528062	0,492836	0,562795
	1	0,637648	0,602878	0,672564
	0,1	1,349808	1,305787	1,394263
150	∞	2,816344	2,757444	2,875482
	1	2,931299	2,872213	2,990647
	0,1	4,889355	4,788512	4,990648
210	∞	17,14479	16,75374	17,53225
	1	23,27353	22,80924	23,73909
	0,1	38,38821	38,0518	38,72549

Природа відмінності залежності швидкість-сила в жорсткому та еластичному півсаркомерах: розподіл елементарних східчастих ковзань актину. Причиною змін середнього $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ є зміна розподілу щільності імовірності $f(\Delta x_{hs})$ випадкової величини Δx_{hs} - зсувів Z-мембрани після будь-якого хімічного переходу. Оскільки кожен крок Z-мембрани Δx_{hs} відбувається після того чи іншого хімічного переходу $m \rightarrow n$, то всі кроки Δx_{hs} можна розділити по тому, після якого переходу стався даний крок. Відповідно, розподіл $f(\Delta x_{hs})$ можна представити у вигляді суми розподілів зсувів Z-мембрани після окремих хімічних переходів:

$$f(\Delta x_{hs}) = \sum_{(km)} f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)}) \quad (4.4)$$

де $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$ розподіл зсувів Z-мембрани, що були викликані переходом $k \rightarrow m$, сумування в (4.4) здійснюється по всіх можливих переходах $k \rightarrow m$. Функції f та $f^{(km)}$ мають задовольняти наступним співвідношенням:

$$\int_{-\infty}^{\infty} f(x)dx = 1 \quad (4.5)$$

$$\int_{-\infty}^{\infty} f^{(km)}(x)dx = w_{km} \quad (4.6)$$

$$\sum_{(km)} w_{km} = 1 \quad (4.7)$$

де w_{km} - константи, сумування в (4.7) здійснюється по всіх можливих переходах $k \rightarrow m$. Середні значення зсувів Z-мембрани ($\langle \Delta x_{hs} \rangle$) та зсувів Z-мембрани після окремих переходів $k \rightarrow m$ ($\langle \Delta x_{hs}^{(km)} \rangle$) визначаються наступним чином:

$$\langle \Delta x_{hs} \rangle = \int_{-\infty}^{\infty} xf(x)dx \quad (4.8)$$

$$\langle \Delta x_{hs}^{(km)} \rangle = \frac{1}{w_{km}} \int_{-\infty}^{\infty} xf^{(km)}(x)dx \quad (4.9)$$

Причому:

$$\langle \Delta x_{hs} \rangle = \sum_{(km)} w_{km} \langle \Delta x_{hs}^{(km)} \rangle = \sum_{(km)} A_{km} \quad (4.10)$$

де $A_{km} = w_{km} \langle \Delta x_{hs}^{(km)} \rangle$ та сумування здійснюється по всіх можливих переходах $k \rightarrow m$.

З (4.10) бачимо, що зміни середнього $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ будуть визначатися змінами компонент A_{km} , зміни яких, в свою чергу, будуть виникати при змінах кінетики або механіки переходів $k \rightarrow m$. Зміна відносної частоти переходів $k \rightarrow m$ буде призводити до зміни вагових коефіцієнтів w_{km} (4.6), величина середнього зсуву Z-мембрани $\langle \Delta x_{hs}^{(km)} \rangle$ (4.9) після переходів $k \rightarrow m$ буде залежати як від змін механічної реакції півсаркомеру на такий перехід, так і від змін їх частоти.

Для одного зі значень зовнішнього навантаження ми проаналізували причини змін середнього кроку $\langle \Delta x_{hs} \rangle$. Нами було обране навантаження 210 пН, яке відповідає ексцентричній частині залежності сила-швидкість, і відмінність швидкості ковзання між жорстким та еластичними півсаркомерами при цьому навантаженні має значний характер. При цьому навантаженні були отримані

розподіли $f(\Delta x_{hs})$ та $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$. На рис. 4.15 показані емпіричні розподіли $f(\Delta x_{hs})$ для півсаркомерів з різною жорсткістю філаментів. Розподіли мають полімодальний характер. Величина можливих миттєвих ковзань Z-мембрани лежить в діапазоні від -0.26 до 0.4 нм, але найбільш часті лежать на інтервалі від -0.1 до 0.1 нм. Зміна середнього $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ відбувається завдяки зміні балансу між кількістю і величиною скорочень ($\Delta x_{hs} < 0$) та розтягувань ($\Delta x_{hs} > 0$).

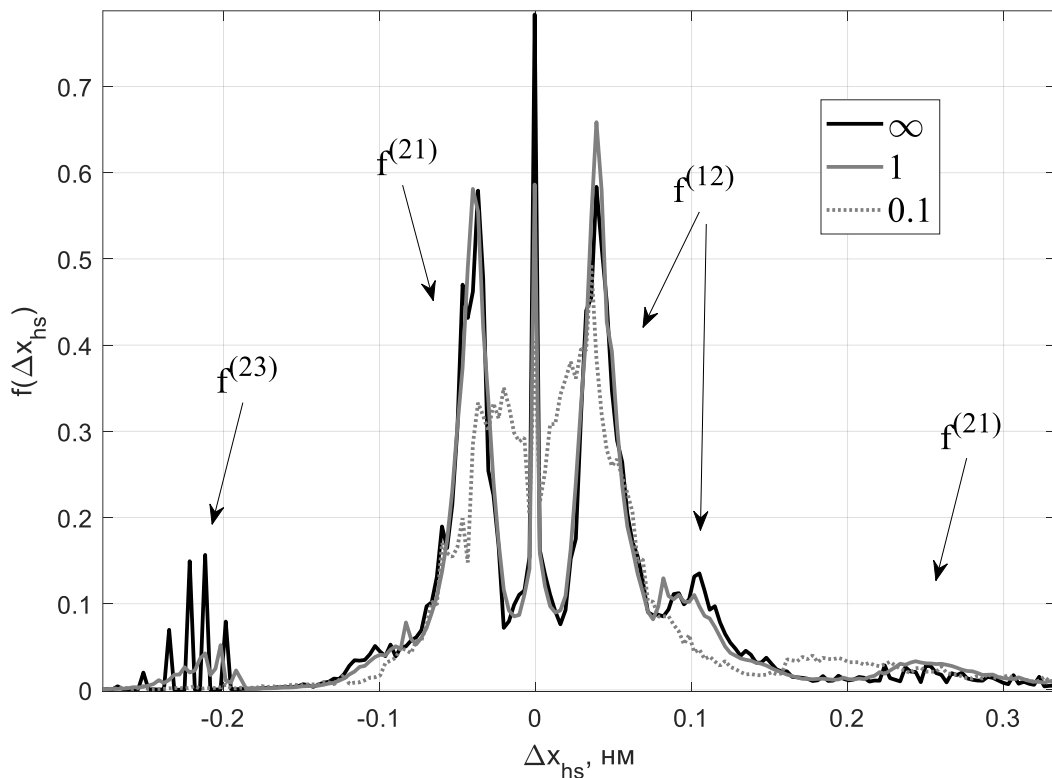


Рис. 4.15. Емпіричні розподіли $f(\Delta x_{hs})$ миттєвих зсувів Z-мембрани після будь-якого хімічного переходу при зовнішньому навантаженні 210 пН. Криві позначені в легенді як ∞ - півсаркомер з абсолютно жорсткими філаментами; 1 - жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} ; 0.1 - жорсткість філаментів, $k_{an}/10$, $k_{mn}/10$. Біля різних частин розподілу вказані хімічні переходи ($i \rightarrow j$), після яких переважно і виникають дані зсуви Δx_{hs} . Значення $\Delta x_{hs} < 0$ відповідають скороченню півсаркомеру, $\Delta x_{hs} > 0$ - його розтягуванню.

На рис. 4.16 показані емпіричні розподіли $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$ зсувів Z-мембрани, що виникають після хімічного переходу $i \rightarrow j$. На малюнку представлені розподіли тільки для найчастіших переходів $i \rightarrow j$, сума кривих, представлених на рис. 4.16, переважним чином і формує сумарні криві $f(\Delta x_{hs})$ з рис. 4.15. Порівнюючи розподіли на рис. 4.16 з рис. 4.15, можемо встановити, переважно якими хімічними переходами обумовлені ті чи інші зсуви Z-мембрани. Результати цього порівняння представлені рис. 4.15. Найчастіші зсуви (-0.1, 0.1) нм обумовлені зв'язуваннями та відривами слабозв'язаних містків. Також відриви цих містків викликають позитивні зсуви (0.2; 0.35) нм. Переходи $2 \rightarrow 3$, що сполучені з виникненням робочого ходу, викликають великі негативні зсуви Z-мембрани (-0.26; -0.19) нм.

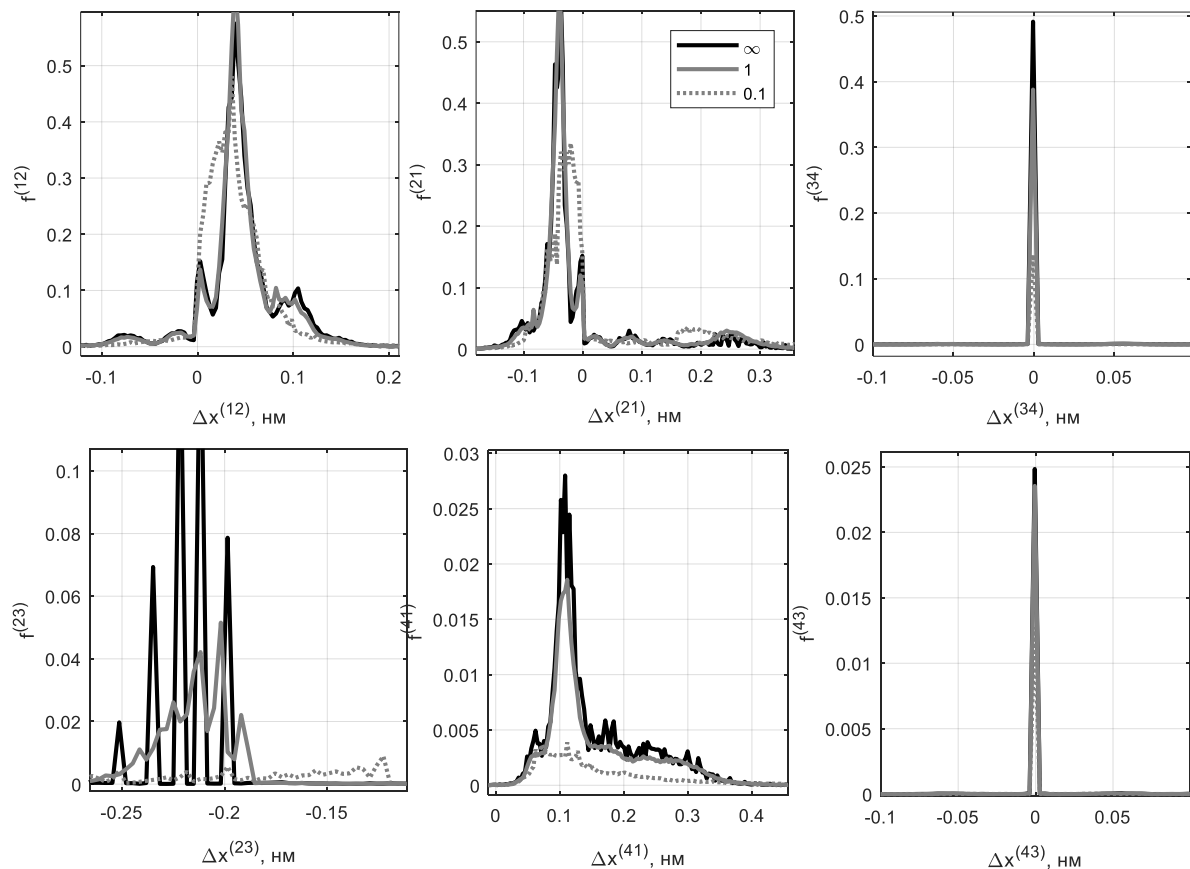


Рис. 4.16. Емпіричні розподіли $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$ миттєвих зсувів Z-мембрани, що виникають після хімічних переходів $i \rightarrow j$ при зовнішньому навантаженні 210 пН. Криві позначені в легенді як ∞ - півсаркомер з абсолютно жорсткими

філаментами; 1 - жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} ; 0.1 - жорсткість філаментів, $k_{an}/10$, $k_{mn}/10$. Представлені розподіли переходів $i \rightarrow j$, що мають найбільшу частоту.

Кількісний вклад окремих переходів в зміни $f(\Delta x_{hs})$ можна оцінити на основі значень A_{km} , (4.10). Вклад в зміни $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ в півсаркомерах з еластичними філаментами (k_{an} , k_{mn}) змін величини ковзань Δx_{hs} , що викликаються переходами $2 \rightarrow 1$, $2 \rightarrow 3$ та $1 \rightarrow 2$, складає $\approx 60\%$, 20% та 7.5% . Збільшення A_{21} в еластичному півсаркомері обумовлено як збільшенням середнього $\langle \Delta x_{hs}^{(21)} \rangle$ (в жорсткому півсаркомері ці переходи в середньому призводять до скорочень півсаркомеру, в еластичних навпаки), так і збільшенням відносної частоти переходів $2 \rightarrow 1$ (w_{21}), табл. 4.6, рис. 4.16. Аналогічна ситуація спостерігається і для переходів $1 \rightarrow 2$.

Таблиця 4.6

Значення $\langle \Delta x_{hs}^{(ij)} \rangle$, w_{ij} та їх 99% довірчі інтервали (ДІ) для окремих переходів $i \rightarrow j$ при $F_{ext} = 210$ пН.

i, j	жорсткість філаментів	$\langle \Delta x_{hs}^{(ij)} \rangle$, нм	99% ДІ для $\langle \Delta x_{hs}^{(ij)} \rangle$		w_{ij}	99% ДІ для w_{ij}	
1,2	∞	0,047360	0,047206	0,047514	0,463274	0,462660	0,463885
	1	0,047907	0,047771	0,048042	0,470635	0,469988	0,471281
	0.1	0,043317	0,043171	0,043463	0,489458	0,489200	0,489718
1,3	∞	-0,155914	-0,159020	-0,152855	0,002608	0,002537	0,002679
	1	-0,159370	-0,162655	-0,156058	0,002124	0,002059	0,002188
	0.1	-0,154500	-0,158841	-0,150161	0,001041	0,001004	0,001077
2,1	∞	-0,007766	-0,008490	-0,007051	0,429690	0,428551	0,430843
	1	0,003491	0,002637	0,004343	0,443504	0,442286	0,444726
	0.1	0,035387	0,034786	0,035986	0,479214	0,478730	0,479697
2,3	∞	-0,217324	-0,217582	-0,217065	0,032875	0,032328	0,033420
	1	-0,214281	-0,214614	-0,213950	0,026225	0,025633	0,026815
	0.1	-0,190547	-0,191831	-0,189263	0,009070	0,008841	0,009301
3,4	∞	0,000872	0,000711	0,001033	0,034247	0,033648	0,034851
	1	0,001154	0,000958	0,001352	0,027266	0,026626	0,027899
	0.1	0,002359	0,001781	0,002939	0,009636	0,009393	0,009882
3,1	∞	0,352115	0,349040	0,355169	0,003064	0,002990	0,003138
	1	0,350774	0,348099	0,353440	0,002987	0,002924	0,003050
	0.1	0,352729	0,348734	0,356724	0,001935	0,001888	0,001983
4,3	∞	0,001683	0,000636	0,002704	0,001742	0,001679	0,001805
	1	0,001676	0,000757	0,002591	0,001653	0,001595	0,001711
	0.1	0,002430	0,000809	0,004066	0,000910	0,000870	0,000950
4,1	∞	0,152163	0,151402	0,152930	0,032500	0,031902	0,033098
	1	0,156449	0,155566	0,157338	0,025607	0,024987	0,026229
	0.1	0,162289	0,160612	0,163967	0,008738	0,008505	0,008968

Що стосується переходів $2 \rightarrow 3$, то в півсаркомерах з еластичними філаментами вони стають менш негативними (робочий крок містка викликає в середньому менші скорочення), та їх відносна частота зменшується (скорочень стає менше).

В півсаркомері з еластичними філаментами ($0.1k_{an}$, $0.1k_{mn}$) ситуація є аналогічною, за виключенням того, що в збільшенні середнього $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ переходи $1 \rightarrow 2$ участі не приймають, зміни розподілу $f^{(12)}$, навпаки, зменшують $\langle \Delta x_{hs} \rangle$. Вклад змін розподілів $f^{(21)}$ та $f^{(23)}$ в зміни $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ складає $\approx 66\%$ та 18% відповідно.

Самі по собі величини w_{ij} та $\langle \Delta x_{hs}^{(km)} \rangle$ не дають можливості судити, що саме було головною причиною змін $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$ в півсаркомерах з еластичними філаментами. Для цього потрібно взяти до уваги, як саме змінилась форма $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$. Якщо візуально порівняти розподіли, представлені на рис. 4.16 можна зауважити наступне.

1) Збільшення середнього розподілу $f^{(21)}$ та відносної частоти переходів $2 \rightarrow 1$ в півсаркомерах з еластичними філаментами відбувається завдяки збільшенню кількості *розтягувань* величиною (0.2; 0.35) нм. В півсаркомері з жорсткістю філаментів $0.1(k_{an}, k_{mn})$ також значний вклад в збільшення середнього дає зменшення середньої величини *скорочень* після переходів $2 \rightarrow 1$ (щільність $f^{(21)}$ в діапазоні $\Delta x_{hs}^{(21)} \in (-0.1; 0)$ зміщується ближче до нуля, рис. 4.16).

2) Збільшення середнього (стає менш негативним) розподілу $f^{(23)}$ та зменшення відносної частоти переходів $2 \rightarrow 3$ в півсаркомерах з еластичними філаментами відбувається завдяки зменшенню кількості *скорочень* величиною (-0.25; 0.2) нм. В півсаркомері з жорсткістю філаментів $0.1(k_{an}, k_{mn})$ *скорочень* після переходів $2 \rightarrow 3$ стає мало, їх середня величина значно зменшується (щільність $f^{(23)}$ зміщується в діапазон $\Delta x_{hs}^{(23)} \in (-0.2; -0.12)$, рис. 4.16).

3) Збільшення середнього розподілу $f^{(12)}$ та відносної частоти переходів $1 \rightarrow 2$ в півсаркомерах з еластичними філаментами $0.1(k_{an}, k_{mn})$ відбувається завдяки збільшенню кількості розтягувань величиною $(0; 0.18)$ нм.

Наведений аналіз показує, що в півсаркомерах з еластичними філаментами при зовнішньому навантаженні 210 пН середнє $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ (а разом з ним і швидкість розтягування) зростає переважно за рахунок збільшення величини та кількості миттєвих розтягувань після відривів слабозв'язаних містків ($2 \rightarrow 1$), а також завдяки зменшенню величини та частоти скорочень після виконання містками робочого ходу ($2 \rightarrow 3$).

Механічна реакція півсаркомеру на зміни стану окремих поперечних містків. Миттєві зсуви Z-мембрани Δx_{hs} , є реакцією півсаркомеру на зміни стану окремих поперечних містків. Величина цієї реакції, з одного боку, буде залежати від механічного стану містка (ε) перед переходом та її типу (відрив, зв'язування, здійснення робочого ходу). З другого боку, ця реакція буде визначатись станом інших зв'язаних містків, а у випадку еластичних філаментів - механічним станом ґратки півсаркомеру. Відповідно, зміни розподілів $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$, які відповідають за збільшення швидкості розтягування при великих навантаженнях в півсаркомерах з еластичними філаментами, можуть бути обумовлені змінами частоти відповідних хімічних переходів, або змінами механічної реакції системи в цілому, на такі переходи. Далі ми проаналізуємо чинники, що призводять до розглянутих вище змін $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$ в півсаркомерах з еластичними філаментами.

Для того щоб з'ясувати, як змінюється механічна реакція півсаркомеру на різноманітні хімічні переходи в півсаркомерах з різною еластичністю філаментів, нами була отримана статистична залежність $\Delta x_{hs}^{(ij)}(\varepsilon^{(i)})$ між величиною $\varepsilon^{(i)}$ деформації еластичного елемента містка перед здійсненням ним хімічного переходу $i \rightarrow j$ та механічною реакцією на цей перехід $\Delta x_{hs}^{(ij)}$. На рис. 4.17 та рис. 4.18 ця залежність представлена у вигляді трьох вимірних гістограм та точкових діаграм для

величин $\Delta\chi_{hs}^{(ij)}$ та $\varepsilon^{(i)}$, при розтягненні з зовнішнім навантаженням 210пН. На цих малюнках представлені криві для переходів $1 \rightarrow 2$, $2 \rightarrow 1$ та $2 \rightarrow 3$.

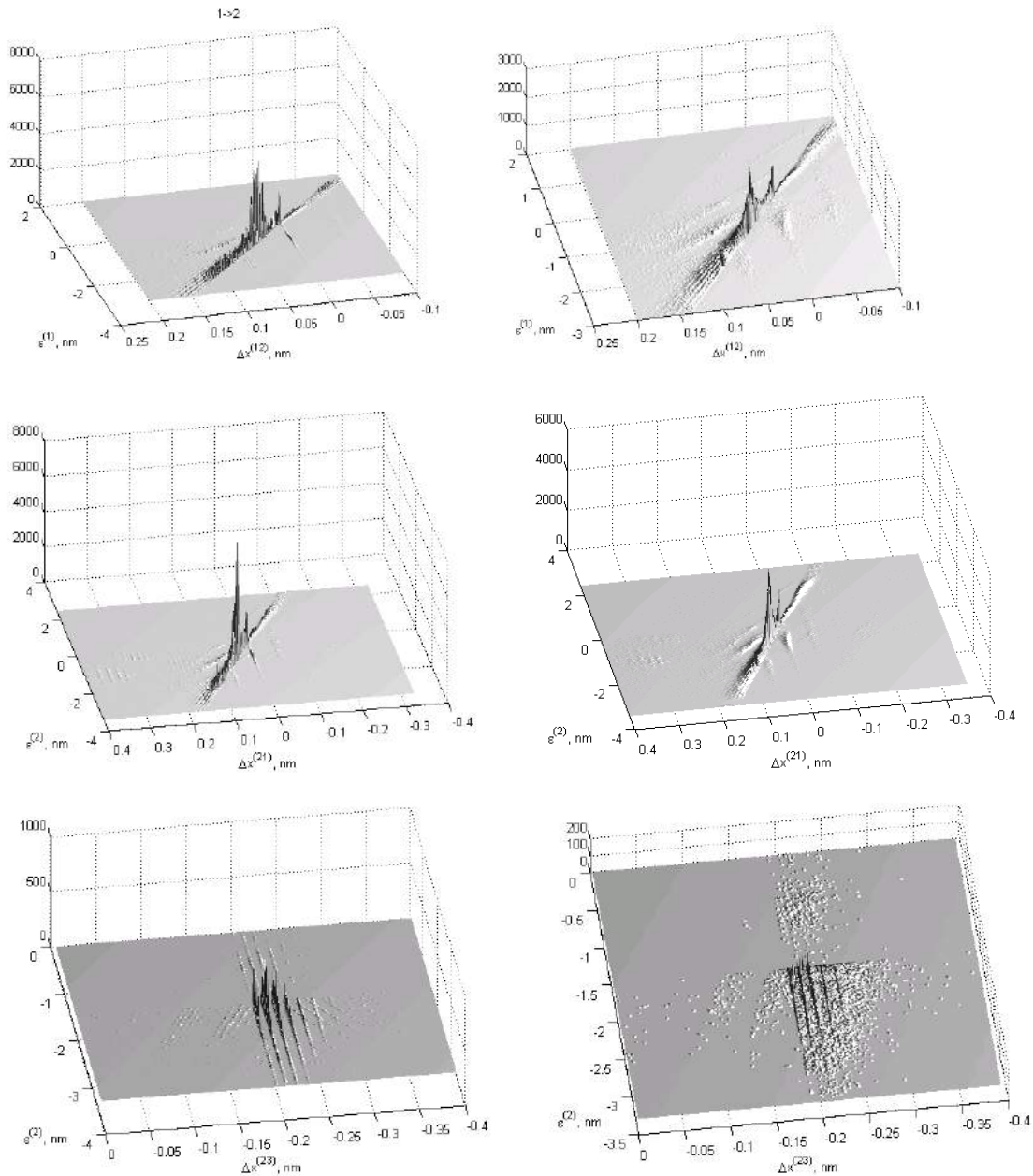


Рис. 4.17. Трьохвимірні гістограми частоти зсувів Z -мембрани $\Delta\chi_{hs}^{(kl)}$, що виникають після переходів $k \rightarrow l$ поперечних містків з деформацією еластичного елемента $\varepsilon^{(k)}$ при зовнішньому навантаженні 210 пН для півсаркомеру з абсолютно жорсткими (лівий стовпчик графіків) та еластичними (жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} ; графіки праворуч) скорочувальними філаментами.

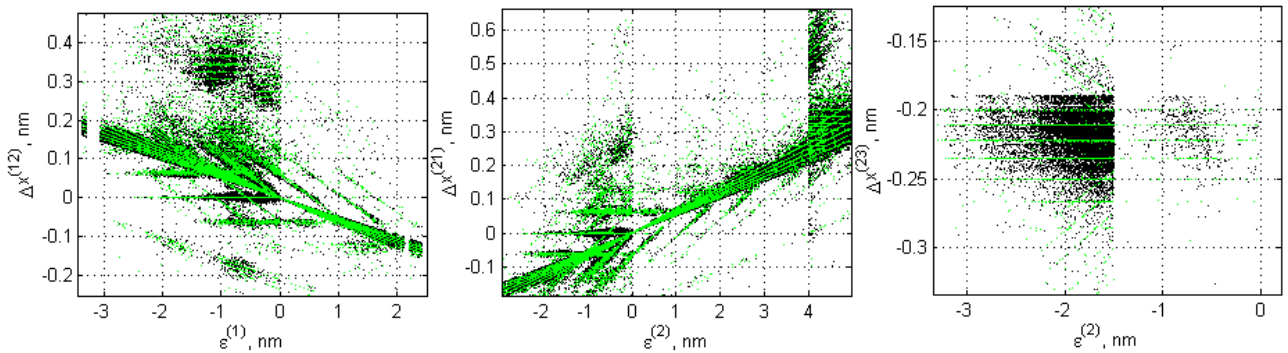


Рис. 4.18. Точкові діаграми зсувів Z-мембрани $\Delta x_{hs}^{(kl)}$, що виникають після переходів $k \rightarrow l$ поперечних містків з деформацією еластичного елемента $\varepsilon^{(k)}$ при зовнішньому навантаженні 210 пН для півсаркомеру з абсолютно жорсткими (сірі точки) та еластичними (жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} ; чорні точки) скорочувальними філаментами.

З рис. 4.17 та рис. 4.18 видно, що одне і те ж значення $\varepsilon^{(k)}$ може викликати зсуви Z-мембрани різної величини. Це пов'язано з відмінністю механічних станів саркомеру, що передують хімічному переходу містка, а також тим, що перехід може здійснюватися різними містками. Дискретність ґратки півсаркомеру відбивається в дискретному характері розподілів (для даного $\varepsilon^{(k)}$ може бути декілька значень $\Delta x_{hs}^{(kl)}$, що виникають найчастіше). Більш чітко ця дискретність розподілів виражена для півсаркомеру з жорсткими філаментами. В півсаркомері з еластичними філаментами розподіли більш дифузні (так само, як це спостерігалось для розподілів заселеності, рис. 4.3). Це пов'язано з тим, що в півсаркомері з еластичними філаментами розширюється його діапазон можливих механічних станів.

Використовуючи діаграми рис. 4.17 та рис. 4.18, для будь-якого даного $\varepsilon^{(k)}$ можна обчислити середнє значення $\Delta x_{hs}^{(kl)}$, що ним викликається. На рис. 4.19 показані залежності величин $\Delta x_{hs}^{(kl)}$ від $\varepsilon^{(k)}$, отримані методом непараметричної регресії при зовнішньому навантаженні 210 пН. Для переходів 1->2, 2->1, 3->1 і 4->1 ця залежність майже лінійна. При переході ПМ з слабозв'язаного стану в сильнозв'язаний (2->3) з розтягнутим еластичним елементом ($\varepsilon^{(2)} > -d$), різні

значення $\varepsilon^{(2)}$ викликають приблизно одну й ту ж саму величину скорочення півсаркомеру.

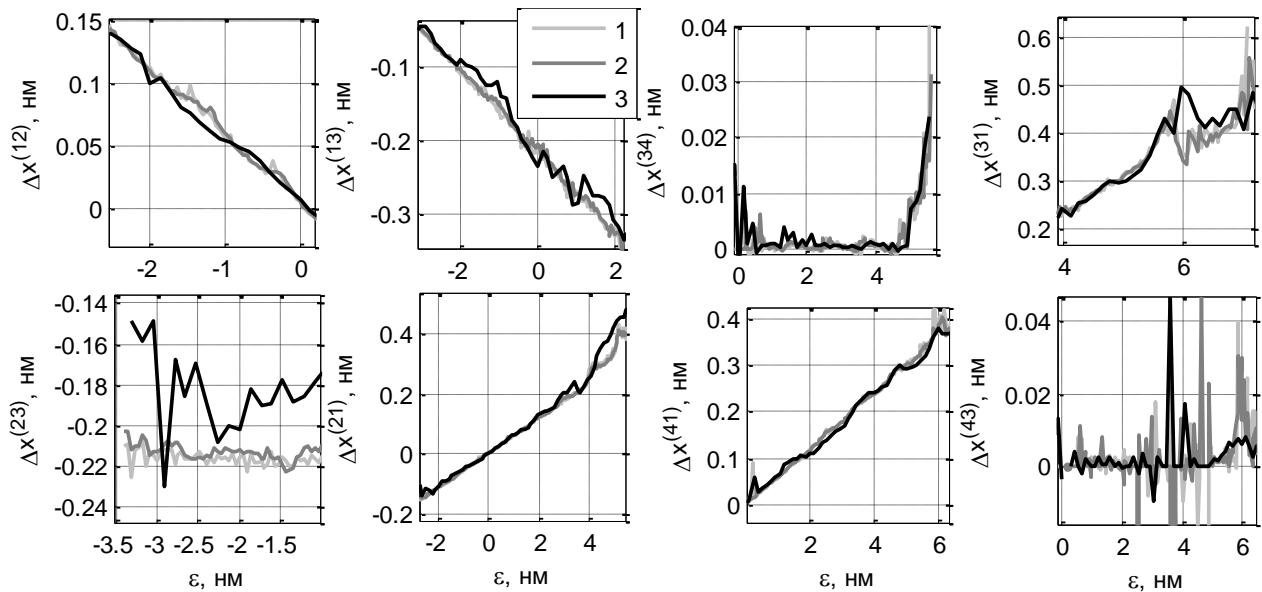


Рис. 4.19. Залежності величини зміщення Z -мембрани $\Delta x_{hs}^{(km)}$, що виникає після переходу $k \rightarrow t$ поперечного містка від деформації $\varepsilon^{(k)}$ при зовнішньому навантаженні 210 пН для півсаркомеру з абсолютно жорсткими (криві 1) та еластичними (жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} - криві 2, $k_{an}/10$, $k_{mn}/10$ - криві 3) скорочувальними філаментами.

Як ми бачили, зміни $f(\Delta x_{hs})$ та $\langle \Delta x_{hs} \rangle$ між півсаркомерами з жорсткими та еластичними філаментами відбуваються, головним чином, завдяки змінам розподілів $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$ в інтервалах $\Delta x_{hs}^{(km)}$: $(-0.18; 0)$ та $(0.2; 0.35)$ нм для переходів $2 \rightarrow 1$ нм; $(0; 0.18)$ для переходів $1 \rightarrow 2$; $\approx (-0.25; -0.2)$ нм для переходів $2 \rightarrow 3$. Як можна бачити з рис. 4.19, для переходів $2 \rightarrow 1$ зміщення $\Delta x_{hs}^{(21)}$ $(-0.18; 0)$ та $(0.2; 0.35)$ нм викликаються переходами містків з деформацією, що лежить в інтервалах $\varepsilon^{(21)} \in (-2.5; 0)$ та $(3.5, 4.5)$ нм відповідно. Переходи $1 \rightarrow 2$, що супроводжуються зміщеннями $\Delta x_{hs}^{(12)} \in (0; 0.18)$, викликаються містками з $\varepsilon^{(12)} \in (0; -2.5)$. В зазначених діапазонах ε криві $\Delta x_{hs}^{(21)}(\varepsilon^{(21)})$ та $\Delta x_{hs}^{(12)}(\varepsilon^{(12)})$ для півсаркомерів з жорсткими та еластичними філаментами (k_{an} , k_{mn}) майже однакові (рис. 4.19). Переходи $2 \rightarrow 3$, що супроводжуються зміщеннями $\Delta x_{hs}^{(23)} \in (-0.25; -0.2)$ нм, викликаються містками з

$\varepsilon^{(23)} \in (-3; -1.4)$ нм. Криві $\Delta x_{hs}^{(23)}(\varepsilon^{(23)})$ для півсаркомерів з еластичним філаментами відрізняються від таких в півсаркомерах з жорсткими філаментами. У перших робочий хід при тому ж самому значенні $\varepsilon^{(23)}$ викликає дещо менші скорочення півсаркомеру.

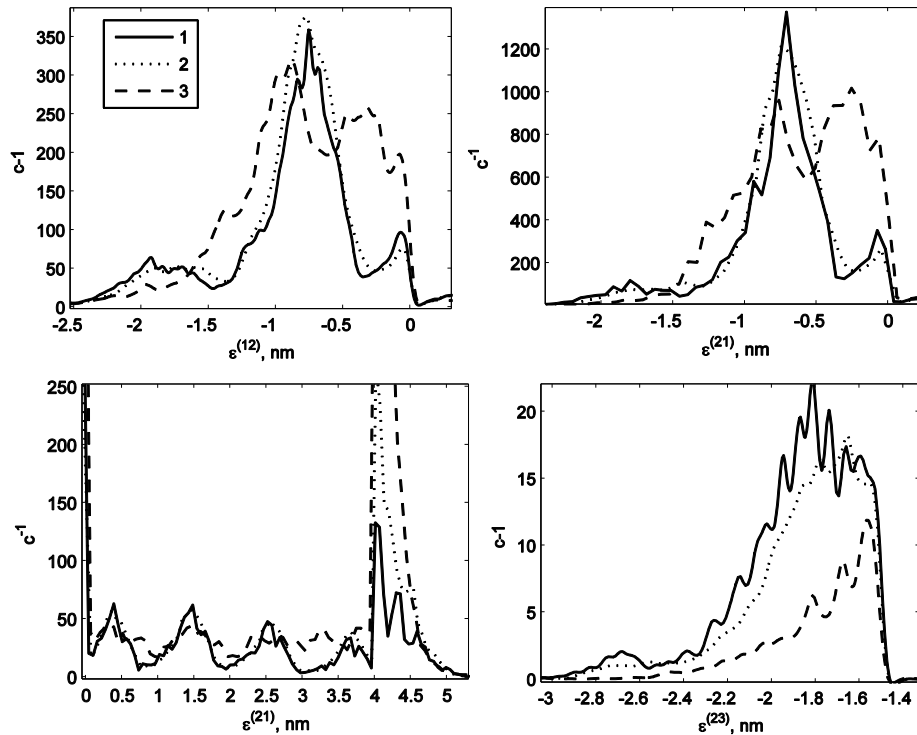


Рис. 4.20. Емпіричні розподіли відносних частот миттєвих деформацій ПМ $\varepsilon^{(ij)}$ після будь-якого хімічного переходу, при зовнішньому навантаженні 210 пН. Криві позначені номером 1 - півсаркомер з абсолютно жорсткими філаментами; 2 - жорсткість філаментів k_{an} , k_{mn} ; 3 - жорсткість філаментів $k_{an}/10$, $k_{mn}/10$. На гістограмі щільності відносних частот були помножені на $1/t_{\text{exp}}$.

Якщо механічні реакції не міняються, ми можемо очікувати, що зміни розподілів $f^{(km)}(\Delta x_{hs}^{(km)})$ є результатом змін частоти виникнення переходів $k \rightarrow m$ з тими чи іншими значеннями деформації $\varepsilon^{(km)}$. З використанням діаграми рис. 4.17 та рис. 4.18 були отримані розподіли значень $\varepsilon^{(km)}$, що передують переходам $k \rightarrow m$, рис. 4.20. Порівняння розподілів деформацій $\varepsilon^{(21)}$, що передують переходам $2 \rightarrow 1$ між півсаркомерами з жорсткими та еластичними філаментами показує, що в останніх відбувається істотне збільшення щільності в інтервалі значень $\varepsilon^{(21)} \in (3.5,$

4.5)нм (це область критичних деформацій), що викликають зміщення $\Delta x_{hs}^{(21)} \in (0.2; 0.35)$. Так само зміни в області $\Delta x_{hs}^{(21)} \in (-0.18; 0)$ розподілу $f^{(21)}$ півсаркомеру з $0.1(k_{an}, k_{mn})$ корелюють зі змінами $\varepsilon^{(21)}$ в відповідній області. Що стосується переходів $2 \rightarrow 3$, то щільність розподілів $\varepsilon^{(23)}$ зменшується в півсаркомерах з еластичними філаментами, найбільш це помітно в півсаркомері з $0.1(k_{an}, k_{mn})$.

Таким чином проведений аналіз показав, що збільшення швидкості розтягування (при великих навантаженнях) в півсаркомерах з еластичними філаментами відбувається головним чином завдяки змінам частоти механохімічних переходів після відривів поперечних містків зі слабозв'язаного стану та переходів, що сполучені з виконанням робочого ходу. При розтягуванні півсаркомеру відриви поперечних містків зі слабозв'язаного стану переважно відбуваються, коли їх деформація досягає критичного значення ($\varepsilon^{(2)} > 4$ нм) в півсаркомері з еластичними філаментами містків, що мають критичну деформацію, стає більше. Це призводить до збільшення кількості позитивних сходинок (розтягування півсаркомеру) та зменшення негативних (скорочення). Додатковим фактором є зміна механічної реакції півсаркомеру на виконання поперечними містками робочого ходу. В півсаркомері з еластичними філаментами робочий хід містка в середньому викликає меншу величину скорочення, частина його роботи іде на деформацію гратки філаментів, зі збільшенням еластичності філаментів цей ефект збільшується. Це призводить до зменшення величини негативних сходинок.

4.2. Ізометричний режим

Динаміка сили та жорсткості. Проводився чисельний експеримент з скорочення півсаркомеру в ізометричному режимі. У цьому режимі м'яз розвиває силу при постійній довжині. Реєструвалася динаміка розвитку сили та жорсткості півсаркомеру, рис. 4.21. Після початку скорочення вони зростають від нуля і через якийсь час виходять на свої стаціонарні значення.

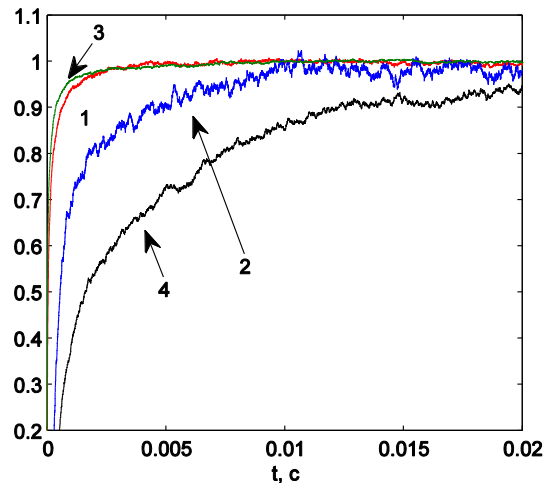


Рис. 4.21. Динаміка жорсткості та сили півсаркомеру при активації в ізометричному режимі. Сила та жорсткість нормовані до своїх стаціонарних значень. Криві 1,3 - жорсткість, 2,4 – сила; 1,2 жорсткі філаменти; 3,4 – філаменти жорсткістю k_{an} , k_{mn}

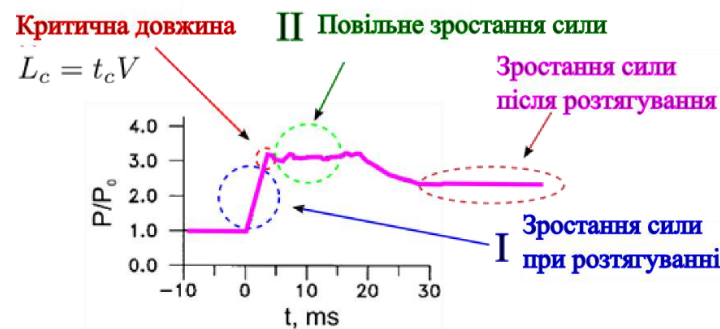
Жорсткість досягає стаціонарного рівня швидше, ніж сила. В півсаркомерах з еластичними та жорсткими філаментами динаміка розвитку жорсткості майже однакова. В півсаркомері з жорсткими філаментами сила виходить на стаціонарний рівень швидше, ніж в еластичному. Аналогічний вплив еластичності та локальних деформацій філаментів був показаний теоретично та експериментально в роботах [18, 19] для відновлення сили в ізометричному режимі.

Відставання сили від жорсткості - наслідок того, що містки спочатку зв'язуються з міозином у слабозв'язаному стані, збільшуючи жорсткість, але не генеруючи силу. Оскільки динаміка зростання жорсткості півсаркомеру майже однакова в півсаркомерах з жорсткими та еластичними філаментами, зміни динаміки сили пов'язані зі змінами кінетики переходів $2 \rightarrow 3$. Відставання сили від жорсткості спостерігалось експериментально [43]. Запропоновані два механізми цього відставання. Відповідно до першого, відставання – результат наявності слабозв'язаного стану в кінетичному циклі. Другий ключовим чинником вважає наявність еластичності у скорочувальних філаментів [42]. В цьому випадку навіть в ізометричному режимі будуть присутні локальні ковзання філаментів, що

призводить до зниження сили у випадку жорстких саркомерів порівняно з еластичними [42]. В нашому випадку діють обидва фактори.

4.3. Силовий відгук на ізокінетичне розтягування.

В моделі була проведена симуляція ізокінетичного розтягування півсаркомеру. Відповідно до протоколу даного експерименту, спочатку півсаркомер скорочується в ізометричному режимі, далі розтягується з постійною швидкістю ($\approx 1\text{-}3\text{ мкм/с}$), після чого його довжина знову фіксується. Сила, що генерується при цьому м'язовим волокном, змінюється характерним чином, рис. 4.22. В фазі розтягування сила волокна спочатку швидко зростає (фаза I), після чого виходить на плато, на якому може спостерігатись її повільний дрейф (фаза II). Перехід між фазою I та фазою II відбувається в момент, коли довжина саркомеру досягає певної критичної довжини L_c [1].



Аналогічно реальному експерименту [1], в симуляції сталість швидкості підтримувалася шляхом створення негативного зворотного зв'язку між величиною зовнішнього навантаження й відхиленням траєкторії розтягання від заданої (додаток А.4.)

Фаза I, II. Силкові відгуки півсаркомеру на зміни його довжини зі швидкістю 1 та 2 мкм/с, що були отримані в моделі, показані на рис. 4.23. Аналогічно до експерименту (для порівняння на рис. 4.23 також наведені експериментальні

відгуки), спостерігається наявність двох фаз (фаза швидкого росту (фаза I) та фаза виходу напруги на плато (фаза II)).

На відміну від експерименту, в фазі II спостерігається коливання сили. Причому в жорсткому півсаркомері вони не затухають, в еластичних - затухають з часом. За один період коливань в півсаркомері з жорсткими філаментами він розтягується на ≈ 1.1 нм. В півсаркомерах з еластичними філаментами період збільшується (при (k_{an}, k_{mn}) приблизно в 5 разів). Зі збільшенням швидкості розтягування амплітуда коливань збільшується. При однаковій швидкості зі збільшенням еластичності філаментів відбувається зменшення початкової амплітуди коливань та збільшення швидкості затухання.

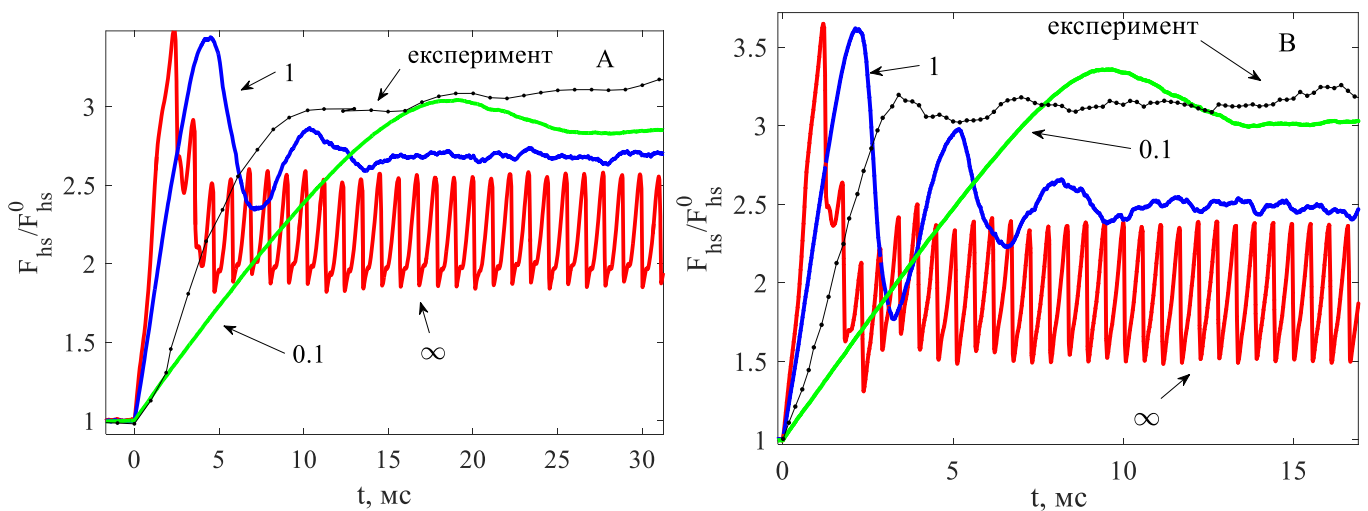


Рис. 4.23. Симуляція силового відгуку півсаркомеру на його розтягування з постійною швидкістю. Показані відгуки півсаркомерів з різною жорсткістю філаментів, для кривих позначених як ∞ , 1 та 0.1 жорсткість дорівнювала ∞ , (k_{an}, k_{mn}) та $(0.1 k_{an}, 0.1 k_{mn})$ відповідно. Також для порівняння наведені експериментальні відгуки розтягування м'язового волокна [1]. Сила півсаркомеру нормована до ізометричної. На рис (А) швидкість розтягування в симуляції складала 1мкм/с для експериментальної кривої 0.8-1 мкм/с, (В) швидкість розтягування в симуляції складала 2мкм/с для експериментальної кривої 1.4-1.8 мкм/с.

Між фазами I та II спостерігається овершут сили, рис. 4.23. Пікова сила зменшується з появою та збільшенням еластичності філаментів. Овершут є більш вираженим при більших швидкостях розтягування, рис. 4.23 В. Пік сили (овершут)

за певних умов спостерігається в експериментальних відгуках [47, 50, 59] при великих швидкостях розтягування, але його походження не зрозуміле.

Зі збільшенням еластичності філаментів відбувається зменшення швидкості зростання сили в фазі I та, відповідно, збільшення критичної довжини L_c , рис. 4.23. Критична довжина L_c складала ≈ 2.4 нм, 4.4 нм та 19 нм для півсаркомерів, що мали жорсткість філаментів ∞ , (k_{an}, k_{mn}) та $(0.1k_{an}, 0.1k_{mn})$ відповідно. Експериментальні значення критичної довжини 6-8 нм [1].

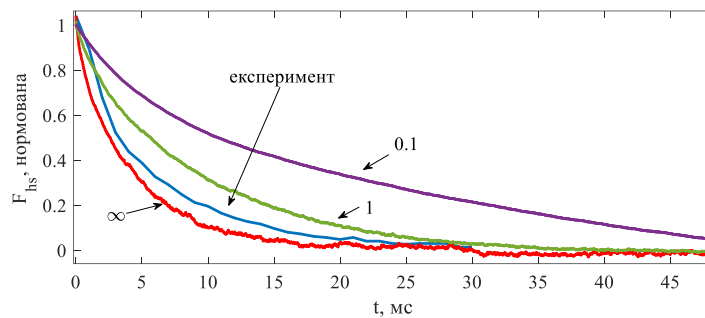


Рис. 4.24. Відновлення сили до ізометричного рівня після розтягування півсаркомеру. Наведені результати симуляції та експериментальний результат для м'язових волокон [1]. В симуляції жорсткість філаментів дорівнювала ∞ , (k_{an}, k_{mn}) та $(0.1k_{an}, 0.1k_{mn})$, криві позначені як ∞ , 1 та 0.1 відповідно. Сила нормована так, щоб початкове значення дорівнювало 1, а стаціонарне 0: $(F_{hs}(t) - F_{hs}(\infty)) / (F_{hs}(0) - F_{hs}(\infty))$. Константа швидкості відновлення сили для кривих ∞ , 1, 0.1 та «експеримент» становила ≈ 240 , 120, 55 та 200 с^{-1} відповідно.

Відновлення сили після розтягування. Після завершення розтягування сила починає відновлюватися до ізометричного значення. В експерименті цей процес включає швидку та повільну компоненти (див. розділ 1.2). Модель, аналогічно [1], відтворює тільки швидку компоненту. В півсаркомерах з еластичними філаментами відбувається уповільнення кінетики відновлення, це є аналогічним до уповільнення розвитку сили при ізометричній активації (розділ 4.2). Для півсаркомерів, що мали жорсткість філаментів ∞ , (k_{an}, k_{mn}) та $(0.1k_{an}, 0.1k_{mn})$, константа швидкості відновлення сили складала ≈ 240 , 120 та 55 с^{-1} відповідно, експериментальне значення цієї константи швидкості $\approx 200 \text{с}^{-1}$ [1]. Швидкість процесу відновлення

залежить від константи швидкості переходів $2 \rightarrow 1$ ($k_{21}(0 < \varepsilon_2 < 4) = 200 \text{ c}^{-1}$), її значення ми обрали на основі значень з роботи [1], в якій ці значення були обрані без врахування впливу еластичності філаментів на кінетику циклічної роботи поперечних містків. Для того аби швидкість кінетики відновлення в півсаркомері з еластичними філаментами співпадала з експериментом, значення $k_{21}(0 < \varepsilon_2 < 4)$ має бути збільшене.

Природа спостережуваних закономірностей. Зміни сили при розтягуванні головним чином обумовлені змінами розподілу слабозв'язаних містків. Аналогічно до моделі [1], швидке зростання сили в фазі I – результат розтягування цих містків, фаза II – виникає як баланс між швидкими відривами слабозв'язаних містків, що розтягнуті до 8 нм, та їх перезв'язуваннями з деформацією, близькою до 0 нм (також див. розділ 1.2). Зростання сили в фазі II та збільшення сили після розтягування можуть бути пов'язані з чинниками, що лежать поза рівнем окремого саркомеру (див. розділ 1.2), та даною моделлю не відтворюються.

Овершут сили між фазами I та II є результатом перехідного процесу, обумовленого конвективним зміщенням ізометричних розподілів вліво до границі $\Delta = 8$ нм, та набуттям ними нової середньої стаціонарної форми. При великих швидкостях розтягування овершут більш виражений завдяки тому, що більш вираженим є цей перехідний процес: ізометричні розподіли будуть зміщуватися практично не міняючи форми, оскільки конвекція буде переважати хімічні потоки.

Наявність коливань в фазі 2 обумовлена дискретністю ґратки філаментів. Як ми бачили в попередніх розділах, розподіли заселеності поперечних містків мають полімодальний характер, рис. 4.2, причому відстань між сусідніми піками дорівнює ≈ 1.1 нм. Такий характер розподілів каже про те, що хімічні властивості різних поперечних містків будуть носити дискретний характер (ця дискретність також видна з періодичного характеру хімічних властивостей поперечних містків вздовж тонкого філаменту, рис. 4.11 та рис. 4.12). Така дискретність буде створювати синхронізацію в роботі поперечних містків. Під час усталених коливань сили фаза зростання обумовлена наближенням до границі $\Delta = 8$ нм одного з піків розподілів (та

утворенням нових піків поблизу $\Delta = 0$ нм), фаза спаду обумовлена переходом піка за границю $\Delta = 8$ нм та швидким відривом слабозв'язаних містків. Періодичність коливань обумовлена просторовою періодичністю розподілів заселеності (1.1 нм).

Затухаючий характер коливань та менша вираженість овершуту сили у випадку еластичних філаментів пов'язані з наявністю їх деформацій та змінами взаємного розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів. Раніше ми бачили, що це призводить до того, що у випадку еластичних філаментів розподіли заселеності стають більш гомогенними, рис. 4.3, те саме стосується і хімічних властивостей поперечних містків вздовж тонкого філаменту, рис. 4.12. В експерименті ці коливання відсутні, їх відсутність пов'язують з розсинхронізацією роботи поперечних містків на рівні м'язового волокна (неоднорідність довжин саркомерів) [47] або саркомеру (відсутність латеральної симетрії). Отримані результати показують, що фактором такої розсинхронізації також може бути еластичність філаментів, яка здатна впливати на регулярність структури ґратки. Цей фактор діє вже на рівні окремої пари філаментів.

Залежність критичної довжини від еластичності філаментів. Основний чинник збільшення критичної довжини L_c зі збільшенням еластичності філаментів - це зменшення жорсткості півсаркомеру. Початкова швидкість збільшення сили в фазі I визначається жорсткістю півсаркомерів. Жорсткість, розрахована з кута нахилу лінійної частини фази I ($K_{hs} = a/V$, де a - кутовий коефіцієнт лінійної частини зростання фази I), співпадає з жорсткістю півсаркомеру в ізометричному режимі. Зміни кінетики, обумовлені наявністю локальних деформацій, також можуть чинити опосередкований чи прямий вплив на величину L_c . Зміна кінетики може впливати на частку зв'язаних містків в ізометричному режимі, що, в свою чергу, буде змінювати жорсткість півсаркомерів (див. розділ 4.1). Однак наявні відмінності кінетики значним чином на жорсткість півсаркомеру не впливають. Незначним чином на L_c буде впливати і зміна форми розподілів заселеності поперечних містків, обумовлена зміною кінетики в півсаркомерах з еластичними філаментами.

Кінетика відновлення сили. Уповільнення кінетики відновлення сили також відбувається внаслідок появи локальних деформацій еластичних філаментів. Спостережувана константа швидкості відновлення сили буде залежати не тільки від відповідних хімічних властивостей поперечних містків. Відповідно до [1], в нашій моделі константа швидкості відривів слабозв'язаних поперечних містків дорівнювала 200 s^{-1} в області $4 < \Delta < 8 \text{ нм}$. Таке значення було обране в роботі [1], в якій використовувалась модель з жорсткими філаментами, для відтворення спостережуваної в експерименті кінетики відновлення сили. Однак отримані результати показують, що при наявності еластичності скорочувальних філаментів таке значення константи швидкості відривів може бути меншим за справжнє значення.

4.4. Висновки до розділу

Наявність еластичності скорочувальних філаментів може впливати на процес генерації сили та скорочення м'яза. Цей вплив виникає як результат наявності локальних деформацій скорочувальних філаментів. Деформації міняють взаємне розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів, таким чином міняючи кінетику їх взаємодій. Також ці деформації, змінюючи регулярність структури ґратки філаментів, будуть впливати на пов'язані з нею кооперативні ефекти в роботі сукупності поперечних містків. Наявність еластичності також може впливати на механічну роботу окремих поперечних містків. Частина їх роботи буде йти на деформацію еластичних філаментів.

В ізотонічному режимі, при навантаженнях більше за ізометричне, наявність еластичності філаментів збільшувала швидкість розтягування, також це зменшувало значення ізометричної сили. Аналогічний вплив величини еластичності філаментів на ізометричну силу спостерігався в ряді експериментальних робіт [15, 16]. Збільшення швидкості розтягування було переважно наслідком змін кінетики відривів слабозв'язаних містків та переходів, що сполучені з виконанням робочого ходу. В еластичному півсаркомері містки відривались частіше та виконували робочий хід рідше. На рівні траєкторії ковзання півсаркомеру це, відповідно, призводило до

збільшення кількості миттєвих розтягувань півсаркомеру та зменшення його миттєвих скорочень. Додатковим фактором збільшення швидкості розтягування було зменшення величини скорочень півсаркомеру у відповідь на здійснення містками робочого ходу.

Зміни кінетики, викликані наявністю локальних деформацій, також впливали на динаміку генерації сили при ізометричній активації та відновленні сили після ізокінетичного розтягування, в обох випадках в півсаркомерах з еластичними філаментами спостерігалось уповільнення перехідної динаміки. Таке уповільнення узгоджується з наявними експериментальними [19] та теоретичними дослідженнями [18]. Характерний час цієї динаміки визначається відповідними константами швидкості механохімічного циклу поперечних містків, але наявність еластичності філаментів призводило до змін спостережуваного значення. Ці результати вказують на те, що при інтерпретації експериментальних результатів еластичність філаментів має враховуватися не тільки з пасивної, механічної точки зору але також має прийматись до уваги її опосередкований вплив на механіку роботи м'яза через зміни кінетики циклічної роботи поперечних містків.

При ізокінетичному розтягуванні наявність еластичності філаментів, зменшало овершут сили між фазами I та II силового відгуку, амплітуду та характер коливань в фазі II. Ці коливання є проявом кооперативних ефектів, що обумовлені дискретністю структури ґратки півсаркомеру. Ці результати вказують на те, що еластичність філаментів як фактор, що призводить до змін регулярність 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

Якщо порівняти наші результати з аналогічною теоретичною роботою [9], можна зазначити наступне: 1) було створено модель, що більш адекватно відтворює експериментально спостережувану механіку розтягування м'язового волокна. Це є важливим при аналізі впливу еластичності скорочувальних філаментів, оскільки цей

вплив найбільше проявляється при розтягуванні та в ізометричному режимі. 2) Здійснювалась симуляція додаткових режимів півсаркомеру та аналіз впливу еластичності філаментів на генерацію в них сили чи ковзання півсаркомеру. Зокрема, була отримана залежність сила-швидкість в ізотонічному режимі, здійснювалась симуляція активації півсаркомеру в ізотонічному режимі та його ізокінетичне розтягування. В ізотонічному режимі було проведено більш детальний аналіз природи впливу еластичності на залежність швидкість сила. Зокрема, в ізотонічному режимі такий аналіз проводився на рівні аналізу статистики траєкторій ковзання та на рівні двовимірних розподілів величин $\varepsilon^{(i)}$ деформації еластичного елемента містка перед здійсненням ним хімічного переходу $i \rightarrow j$ та механічною реакцією півсаркомеру на цей перехід $\Delta x_{hs}^{(ij)}$.

Основні положення цього розділу опубліковані в роботах [120-123, 131].

РОЗДІЛ 5. СИНХРОНІЗАЦІЯ РОБОТИ ПОПЕРЕЧНИХ МІСТКІВ В ДИСКРЕТНІЙ ГРАТЦІ ФІЛАМЕНТІВ

Завдяки тому, що поперечні містки здійснюють свою роботу, будучи частиною єдиної структури саркомеру, вони здатні механічно взаємодіяти один з одним. Така взаємодія є передумовою для формування різного роду колективних ефектів в роботі поперечних містків. Ці ефекти можуть лежати в основі закономірностей, що спостерігаються в роботі м'язу на макроскопічному рівні. Наприклад, з експериментальних досліджень відомо, що м'яз здатен здійснювати автоколивальну динаміку. Так, при східчастій зміні сили в ізотонічному режимі для м'язових волокон жаби спостерігаються затухаючі коливання довжини [2] (дивіться також розділ 1.3.3). При ізокінетичному скороченні чи розтягуванні міофібрил з м'язових волокон літальних м'язів комах, скелетних та серцевого м'язів кролика зміни довжини окремих саркомерів відбуваються східчасто [3-5]. Так само на рівні окремої пари товстий-тонкий філаменти, ковзання тонкого філаменту проти еластичного навантаження відбувається по східчастій траєкторії [6]. Вважається, що така осциляторна динаміка є проявом синхронності роботи окремих поперечних містків. В основі цієї синхронізації можуть лежати обмеження, що їх накладає ґратка саркомеру на взаємодію міозину з актином. Побічно на це вказує кількісний зв'язок параметрів такої динаміки з геометричними параметрами ґратки. Так, в роботі [2] повна амплітуда затухаючих коливань довжини м'язового волокна дорівнювала 2.7 нм. В роботах [3-6] висота сходинок в траєкторії ковзання саркомерів або пари філаментів також була кратною 2.7 нм. З іншого боку, значення 2.7 нм має аксіальне зміщення на мономер актинового філаменту.

Стрибкоподібна динаміка, що є якісно схожою з експериментальною, була отримана в ряді теоретичних робіт, в яких використовувались моделі з дискретною ґраткою [21-23]. Було зроблено припущення, що стрибкоподібна динаміка, отримана в моделях, є аналогічною до спостережуваної експериментально. В роботі [22] детально проаналізована природа колективних ефектів, що лежали в основі такого східчастого ковзання. Однак в цій роботі серед факторів, що відповідають за синхронізацію, не розглядається дискретність ґратки філаментів. Кооперативні

ефекти виникають завдяки взаємному впливу містків на їх здатність взаємодіяти з актином. З другого боку, в попередніх розділах ми бачили, що просторове розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів в дискретній ґратці є фактором, що значним чином модулює актоміозинові взаємодії, генерацію сили поперечними містками. Тож можна очікувати, що цей структурний фактор також може відігравати значну роль в формуванні кооперативних ефектів. В роботі [21], в якій також були отримане східчасте ковзання, цей фактор згадується, але не показана молекулярна природа його впливу, не надається пояснення зв'язку між величиною сходинки та геометричними параметрами ґратки саркомеру. Серед інших недоліків існуючих робіт також можна зазначити відсутність аналізу механізму утворення сходинки, величина яких є в декілька разів більшою, ніж величина елементарної сходинки (2.7 нм); відсутність кількісного збігу величини елементарної сходинки з експериментальним значенням. В цьому, а також наступному розділі, нами була зроблена спроба усунути перелічені недоліки. Як підсумок, ми розглянемо правомірність ототожнення стрибкоподібного руху, що спостерігається в експерименті та в моделі.

В цьому розділі в рамках просторово розподіленої стохастичної моделі півсаркомеру ми відтворимо режим східчастих змін довжини півсаркомеру в ізотонічному режимі. Кількісно порівняємо цю східчасту динаміку ковзання з експериментальними результатами з робіт [3-6]. Проаналізуємо молекулярний механізм, що лежить в основі формування стрибкоподібної динаміки в моделі, з'ясуємо роль структури геометрії ґратки філаментів, знайдемо кількісний зв'язок між величиною сходинки та мікроскопічними параметрами, що характеризують структуру саркомеру чи/та властивості окремих поперечних містків.

5.1.1. Східчасті траєкторії ковзання півсаркомеру

Траєкторії ковзання півсаркомеру були отримані в ізотонічному режимі для різних величин зовнішнього навантаження в півсаркомері з еластичними волокнами k_{mn} , k_{an} . Скороченню півсаркомеру в ізотонічному режимі передувала його активація в ізометричному режимі. Під час симуляції реєструвалися траєкторія

зміни довжини півсаркомеру, а також динаміка механохімічних станів окремих поперечних містків півсаркомеру та їх сукупності (динаміка розподілів $n_i(\varepsilon, t)$ заселеності поперечних містків в різних хімічних станах від їх деформації).

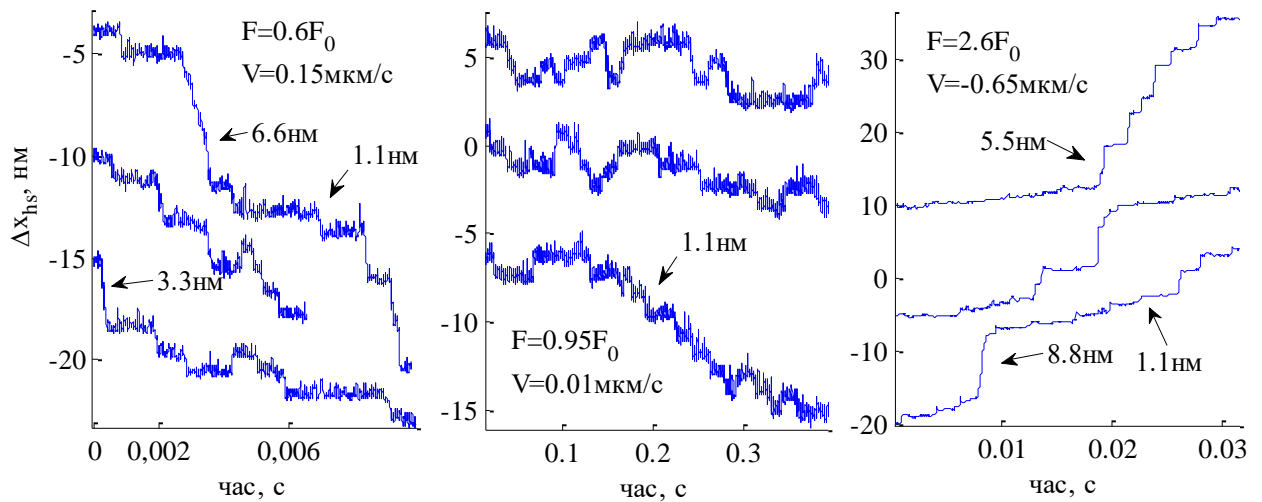


Рис. 5.1. Фрагменти траєкторій зміни довжини півсаркомеру (Δx_{hs}) в ізотонічному режимі для трьох різних значень зовнішнього навантаження F_{ext} . Значення F_{ext} (в одиницях ізометричної сили F_0), разом зі значенням середньої швидкості зміни довжини півсаркомеру V ($V > 0$ – скорочення, $V < 0$ – розтягування) зазначені на графіках. Стрілками показані деякі з великомасштабних сходинок з зазначенням їх приблизної висоти. Жорсткість скорочувальних філаментів складала k_{an} , k_{m}

Як ми бачили в розділі 4.1, траєкторія переміщення Z-мембрани має східчасту форму, сходинки виникають внаслідок механохімічних переходів окремих поперечних містків, їх величина не перевищує 0.5 нм (рис. 4.15). Але якщо подивитись на ті самі траєкторії в більшому часовому масштабі рис. 5.1, можна виявити наявність інших сходинок з величиною, що значно перевищує розмір сходинок, які виникають внаслідок механохімічних переходів окремих поперечних містків (на рис. 5.1 деякі з цих сходинок позначені стрілками разом з зазначенням їх висоти). Ці великі сходинки (далі будемо називати їх великомасштабними) утворюються з безлічі дрібних сходинок переважно однакового напрямку, після переходів окремих містків, що здійснюються синхронно у часі. Великомасштабні сходинки чергуються з ділянками траєкторії, де актин залишається майже

нерухомим, рис. 5.1. Візуально отримані траєкторії схожі з траєкторіями отриманими в експерименті, в якому реєстрували східчасті траєкторії ковзання ізольованої пари актинового та міозинового філаментів [6], рис. 1.6.

Для отриманих траєкторій була виконана автоматична ідентифікація величини великомасштабних сходинок. Для цього використовувалися два методи. Перший – це самостійно розроблена процедура, що використовує дискретне вейвлет перетворення (додаток А.3). Другий метод був реалізований з використанням процедури, запропонованої в роботі [108]. Ідентифікація повторно проводилась для 500 реалізацій траєкторій (кожна тривалістю 0.5 с), що були отримані для певної величини ізотонічного навантаження. Результати представлялись у вигляді нормованих гістограм розподілу величини сходинок. Власний алгоритм ідентифікації з використанням вейвлет аналізу та алгоритм з роботи [108] дали аналогічні результати. На рис. 5.2 показані гістограми величини великомасштабних сходинок. Аналогічно експериментальним (рис. 1.5), вони мають полімодальний характер. Величина сходинок в залежності від зовнішнього навантаження може досягати 6.6 нм і більше, однак вона завжди кратна величині 1.1 нм. В експерименті величина найменшої сходинок складає 2.7 нм. Як і в експерименті [4], при збільшенні швидкості ковзання відбувається збільшення кількості великих сходинок відносно малих, рис. 5.2. Сходинок в траєкторії спостерігаються, як при скороченні, так і при розтягуванні півсаркомеру, однак їх напрямок є протилежним рис. 5.2. При навантаженнях, що є близькими до ізометричного, крім сходинок прямого напрямку, також спостерігаються зворотні сходинок. Аналогічно до експерименту, при зменшенні швидкості ковзання Z-мембрани відбувається зменшення кількості прямих (тобто, для скорочення це сходинок, що направлені вліво, негативні, для розтягування, навпаки, позитивні) сходинок великої амплітуди, та збільшується кількість, сходинок зворотного напрямку, рис. 5.2.

Гістограми великомасштабних сходинок також були отримані для півсаркомеру з абсолютно жорсткими скорочувальними філаментами. В рамках статистичної похибки ці гістограми не відрізнялись від наведених на рис. 5.2.

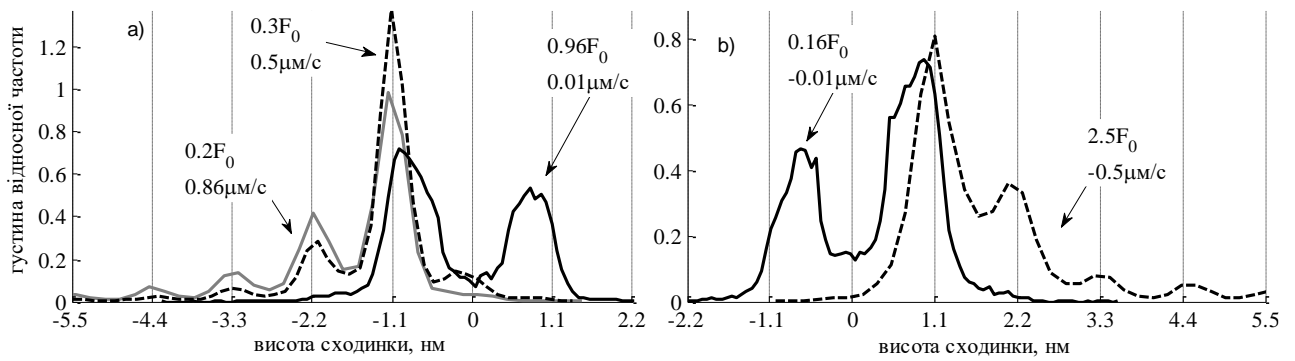


Рис. 5.2. Гістограми розподілу величини великомасштабних сходінок у траєкторії зміни довжини півсаркомеру при різних зовнішніх навантаженнях F_{ext} . Для кожної кривої зазначені значення F_{ext} в одиницях ізометричної сили F_0 , а також середня швидкість ковзання. Негативні сходінки призводять до скорочення півсаркомеру, позитивні – до розтягування. Сходінки ідентифікувались автоматично за допомогою процедури, що використовує вейвлет аналіз.

5.1.2. Дискретність набору деформацій

Для подальшого аналізу молекулярного механізму, що лежить в основі формування великомасштабних сходінок, необхідно розглянути деякі особливості взаємодії поперечних містків з актином, які витікають з припущень просторово розподіленої моделі півсаркомеру з дискретною ґраткою. В подальшому, в якості незалежної змінної на всіх графіках величин, що залежать від деформації еластичного елемента поперечного містка, ми будемо використовувати величину деформації в слабозв'язаному стані - ε_2 . Це спрощує візуальне порівняння величин, що залежать від ε_i з різними i . Також, для спрощення, замість ε_2 ми будемо використовувати позначення ε ($\varepsilon \equiv \varepsilon_2$). На відміну від деформацій в інших зв'язаних станах, ε_2 не включає в себе деформації завдяки внутрішнім конформаційним змінам містка (d).

Стаціонарні заселеності поперечних містків. На рис. 5.3,а представлені залежності $k_{ij}(\varepsilon)$ деяких з переходів $i \rightarrow j$. Разом з графіками $k_{ij}(\varepsilon)$, що показують значення констант швидкості, для подальшого аналізу буде корисним представити

стаціонарні заселеності поперечних містків для цих констант швидкостей при різних ε , що відповідають цим константам. З рис. 5.3,b можна бачити, якими будуть в ізометричному режимі стаціонарні співвідношення між кількістю містків в різних хімічних станах, якщо всі вони мають деформацію ε . Кожен з наборів $n_i(\varepsilon)$ при заданому ε був отриманий знаходженням стаціонарного стану для відповідної системи кінетичних рівнянь з константами швидкості $k_{ij}(\varepsilon)$.

Відстані від поперечного містка до зв'язувального центру. На відміну від моделей типу класичної моделі Хакслі, де відстань Δ є безперервною величиною, в моделях з дискретною ґраткою півсаркомеру відстань від поперечного містка до найближчого зв'язувального центру праворуч чи ліворуч буде дискретною величиною (відповідно, деформації еластичних елементів містків також будуть дискретними величинами). Встановимо характеристики дискретної множини Δ .

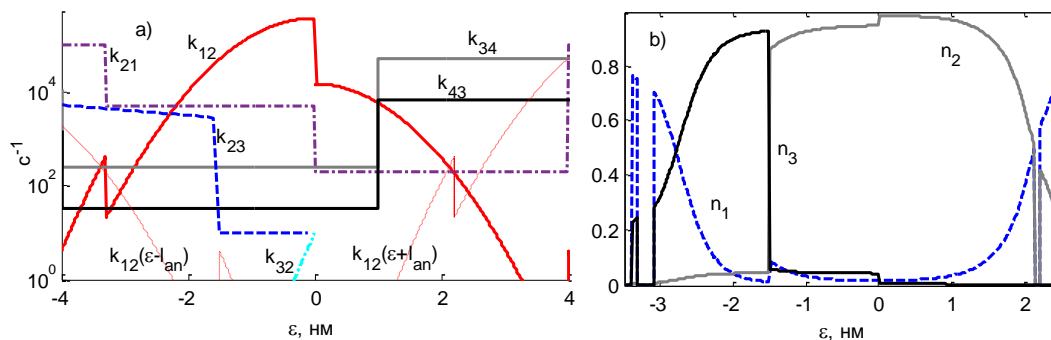


Рис. 5.3. а) Константи швидкостей k_{ij} деяких переходів $i \rightarrow j$. б) Стаціонарні розподіли заселеності $n_i(\varepsilon)$ містків в вільному стані та двох перших, зв'язаних, в ізометричному режимі. Заселеність стану n_4 не показана, оскільки він є малозаселеним.

Припустімо, що ми маємо безкінечно довгі товстий та тонкий філаменти, які є абсолютно жорсткими. Якщо ми обираємо на товстому філаменті місток з номером i , то уздовж міозину можна знайти місток з номером $i + n_{cb}$, який буде мати таку ж відстань Δ до найближчого праворуч зв'язувального центру на актині, як і у i -го містка. Всі містки з i -го по $i + n_{cb} - 1$ -й, будуть мати унікальні відстані Δ , далі (починаючи з містка $i + n_{cb}$) цей набір Δ (патерн) буде повторюватися, рис. 5.4.

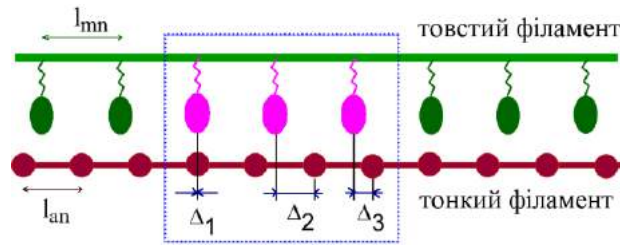


Рис. 5.4. Патерн можливих значень величини Δ . В прикладі на малюнку період патерну складає $n_{cb} = 3$ (містки, що виділені рамкою). В межах патерну всі містки мають різні відстані Δ_i . Містки праворуч, чи ліворуч від виділеного патерну, будуть мати такі самі набори Δ_i .

Величина періоду n_{cb} може бути отримана шляхом розв'язання рівняння:

$$l_{mn} n_{cb} = l_{an} n_{bs}, \quad (5.1)$$

де n_{cb} і n_{bs} - невідомі цілі числа, причому, вони повинні бути найменшими з можливих. Інакше кажучи, нам необхідно знайти, в яке мінімальне ціле число (n_{cb}) відстаней l_{mn} укладеться ціле число (n_{bs}) відстаней l_{an} . Всі n_{cb} унікальних відстаней будуть залежати від поточного взаємного зміщення Δ_{hs} між товстим та тонким філаментами, однак в будь-якому випадку, два будь-які найближчі значення в цьому наборі завжди відрізняються на s . Величина s дорівнює:

$$s = l_{mn} / n_{bs} = l_{an} / n_{cb} \quad (5.2)$$

Таким чином, множина Δ буде складатись з наступних значень:

$$\Delta^k = ks + const, \quad k = 1, \dots, T_{cb}, \quad \Delta^k \in [0, l_{bs}] \quad (5.3)$$

У випадку нашої моделі періодичність патерну поперечних містків складає $n_{cb} = 5$, можливі відстані Δ в дискретному наборі йдуть з кроком $s = 1.1$ нм.

Також слід зазначити, що фактична структура множини дискретного набору деформацій може залежати від кількості поперечних містків та ступеню перекриття актину та міозину, якщо ця кількість не кратна n_{cb} .

Дискретний характер кінетичних властивостей поперечних містків. В силу дискретності $\Delta \in (-d; l_{an} - d)$ дискретними також будуть найближча відстань до зв'язувального центру ліворуч ($\Delta - l_{an} \in (-l_{an} - d; -d)$), а також «потенційної

деформації» вільних містків $\varepsilon_1 \in (-l_{cb}; l_{cb})$ та деформації зв'язаних містків $\varepsilon_i \in (-\infty; \infty)$, $i = 2, 3, 4$. Також дискретний характер будуть мати і кінетичні властивості поперечних містків. Оскільки константи хімічних переходів $k_{ij}(\varepsilon_i)$ залежать від деформації еластичного елемента ε_i , ми будемо мати в півсаркомері скінченний набір груп містків, кожна з яких має однакові кінетичні властивості. При зсувах актину відносно міозину на величину Δx_{hs} деформації всіх зв'язаних містків змінюються на Δx_{hs} (це твердження є точним лише по відношенню до півсаркомеру з жорсткими філаментами, у випадку еластичних філаментів воно носить приблизний характер), а отже й кінетичні властивості містків в кожній з груп також міняються. Яким чином будуть відбуватись ці зміни, можна оцінити з рис. 5.3. З рис. 5.3,b видно, що весь діапазон ε можна умовно розділити на декілька під діапазонів, при переході між якими будуть відбуватися різкі якісні зміни кінетичних властивостей поперечних містків з відповідними змінами в заселеності. Так, в групах містків, деформація яких лежить в діапазонах $\varepsilon < -2.8$ нм та $\varepsilon > 2.2$ нм, будуть переважати вільні містки. Причому при $\varepsilon < -2.8$ нм наявні зв'язані містки представлені майже виключно слабозв'язаними містками, а при $\varepsilon > 2.2$ нм - сильнозв'язаними в стані 3. В діапазоні $-2.8 < \varepsilon < -1.5$ нм переважають сильнозв'язані містки 3, в діапазоні ж $-1.5 < \varepsilon < 2.2$ нм - слабозв'язані. Зміна заселеності n_2 та n_3 між цими двома регіонами відбувається майже сходинкою. Така залежність розподілу заселеності від ε визначається залежностями $k_{ij}(\varepsilon)$ (рис. 5.3,a).

Циклічний характер набору деформацій вільних містків. В нашій моделі передбачається, що вільні містки зв'язуються тільки з найближчим зв'язувальним центром праворуч чи ліворуч. Якщо деформація, яку необхідно отримати містку для зв'язування з найближчим зв'язувальним центром праворуч $\varepsilon_1 \in (0; l_{an})$, тоді деформація, яку йому треба отримати для зв'язування з найближчим центром ліворуч дорівнює $\Delta - l_{an} \in (-l_{an}; 0)$. Якщо виконується умова:

$$k_{12}(\varepsilon_1) > k_{12}(\varepsilon_1 - l_{an}), \quad (5.4)$$

місток буде зв'язуватися з центром праворуч зі швидкістю $k_{12}(\varepsilon_1)$, в протилежному випадку – з лівим зі швидкістю $k_{12}(\varepsilon_1 - l_{an})$. Виходячи з умови (5.4), можемо визначити інтервал ε_1 , на якому вільний місток здатен зв'язуватися з зв'язувальним центром праворуч чи ліворуч. Якщо інтервал ε_1 , де місток зв'язується з правим зв'язувальним центром, становить $(0; \varepsilon_1^{\max} \leq l_{an})$ (інтервал зв'язування з лівим центром тоді буде $(\varepsilon_1^{\max} - l_{an}; 0)$), розподіл $n_1(\varepsilon_1)$ для вільних містків, що є функцією визначеною в діапазоні $\varepsilon_1 \in (\varepsilon_1^{\max} - l_{an}; \varepsilon_1^{\max})$, буде підкорятись періодичним граничним умовам:

$$n_1(\varepsilon_1^{\max}) = n_1(\varepsilon_1^{\max} - l_{an}) \quad (5.5)$$

Наприклад, якщо якась група вільних містків має відстань до найближчого зв'язувального центру таку, що $\varepsilon_1 \in [0; \varepsilon_1^{\max})$, всі ці містки будуть зв'язуватися тільки зі зв'язувальними центрами праворуч. При розтягуванні півсаркомеру значення ε_1 буде збільшуватися, і в якийсь момент для цієї групи воно досягне значення ε_1^{\max} . Після цього, при подальшому збільшенні ε_1 , містки цієї групи замість правих почнуть зв'язуватися з лівими зв'язувальними центрами. Це буде тривати, доки містки не досягнуть $\varepsilon_1 = 0$ зліва і, в силу граничної умови $n_1(+0) = n_1(-0)$, знову почнуть зв'язуватись з правими центрами.

Розглянутий випадок, коли (5.4) виконується лише на одному інтервалі, можливий за умови монотонного зменшення $k_{12}(|\varepsilon_1|)$ при зростанні $|\varepsilon_1|$. Наприклад, якщо $k_{12}(\varepsilon_1)$ - парна функція (Гаусова крива), тоді з (5.4), $\varepsilon_1^{\max} = -l_{an} / 2$. В загальному ж випадку може існувати більш, ніж один інтервал, на якому виконується (5.4). Так, в нашій моделі існує декілька точок перетину $k_{12}(\varepsilon_1 > 0)$ з $k_{12}(\varepsilon_1 + l_{an})$, рис. 5.3,а, але один з інтервалів, на якому виконується (5.4), порівняно невеликий, і далі для простоти ми знехтуємо ним. Тож, при подальшому аналізі будемо вважати, що в нашій моделі $\varepsilon_1^{\max} \approx 2.4$ нм, та граничні умови (5.5) мають вигляд:

$$n_1(2.4\text{нм}) = n_1(-3.1\text{нм}) \quad (5.6)$$

5.1.3. Молекулярний механізм формування великомасштабних сходинок.

Тепер розглянемо, які молекулярні події супроводжують формування великомасштабних сходинок в траєкторії. Для того щоб полегшити такий аналіз, був зменшений рівень випадкового шуму, що пов'язаний в моделі з випадковістю кінетичних переходів містків. Для цього кількість містків була збільшена до $N=10000$. За відсутності шуму, траєкторії складаються тільки з елементарних великомасштабних сходинок 1.1нм . Величина цих елементарних сходинок співпадає зі значенням величини δ (5.2) для нашої моделі. На рис. 5.5 показані фрагменти траєкторій такого півсаркомеру, на яких присутні великомасштабні сходинокки.

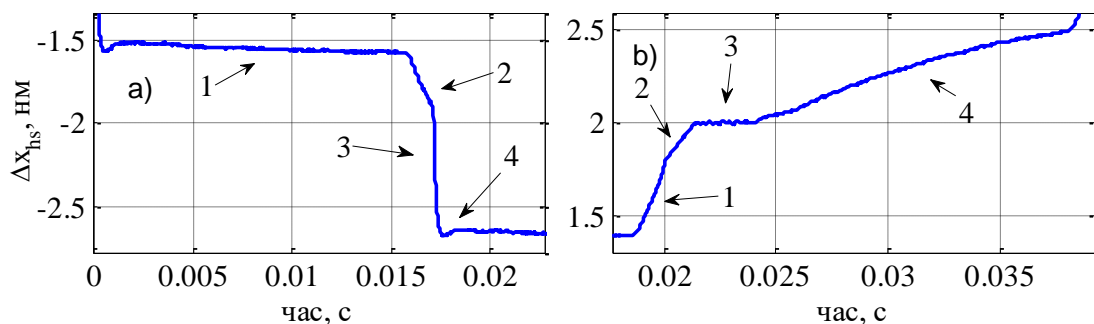


Рис. 5.5. Фрагменти траєкторії зміни довжини півсаркомеру ($N=20000$) в ізотонічному режимі. а) Скорочення півсаркомеру: 1 – плато великомасштабної сходинокки, 2 - перша більш повільна фаза скорочення, 3 – друга швидка фаза скорочення, 4 – перехідна фаза перед початком виходу на нове плато. б) Розтягування півсаркомеру: 1 – фаза швидкого розтягування, 2 – уповільнення швидкого розтягування, 3 – плато, 4 – пришвидшення розтягування на плато.

З рис. 5.5 видно, що при скороченні великомасштабна сходинокка складається з двох частин: різкій зміні довжини передуює фаза більш повільного спуску (рис. 5.5,а – ділянки 2,3), при розтягуванні, навпаки, в кінці сходинокки (рис. 5.5,б – ділянка 1) спостерігається фаза, коли розтягування уповільнюється (рис. 5.5,б – ділянка 2). На плато актиновий філамент не залишається нерухомим, відбувається повільний його дрейф в напрямку, що співпадає з напрямком сходинокки (рис. 5.5,а – ділянка 1 та рис. 5.5,б – ділянка 3). Причому, при розтягуванні повільний дрейф в якийсь момент значно пришвидшується (рис. 5.5,б – ділянка 4).

Повна висота сходинок (плато та фази швидкої зміни довжини) на рис. 5.5, як при скороченні, так і при розтягуванні, становить 1.1 нм. Однак при скорченні амплітуда плато становить лише $\approx 5\%$ від загальної амплітуди сходинки, тоді як при розтягуванні вона вже складає $\approx 45\%$.

Для того щоб пояснити спостережувані на рис. 5.5 зміни довжини, розглянемо динаміку стану півсаркомеру на рівні дискретних груп поперечних містків з різними деформаціями. На рис. 5.6 показана динаміка дискретних розподілів заселеності містків у вільному та двох перших зв'язаних хімічних станах (стан 4 є слабо заселеним, тому не розглядається). Відповідно до змін довжини півсаркомеру (див. врізання на рис. 5.6 a-g) відбувається зміщення розподілів заселеності вздовж осі деформації ε , при скороченні розподіли зміщуються вліво (рис. 5.6, a-g, тут зміщення всього розподілу можна бачити по зміні положення однієї з груп містків, наприклад, групи 3), при розтягуванні - вправо (рис. 5.6 h-n). Переміщуючись, кожна з груп містків проходить певний цикл перетворень, на протязі якого відбувається перерозподіл заселеності між різними хімічними станами (рис. 5.6 a-g). При малих швидкостях ковзання це співвідношення при різних ε буде приблизно таким як на рис. 5.6, b. Оскільки одночасно існує декілька груп при різних ε , в півсаркомері різні стадії цього циклу можна спостерігати одночасно (але з різними групами). При скороченні діапазон можливих ε при таких переміщеннях праворуч обмежений границею ≈ 2.4 нм, саме тут в силу періодичних граничних умов (5.6) будуть з'являтися вільні містки, здатні зв'язуватися з правими зв'язувальними центрами. Величина границі ε ліворуч залежить від констант швидкостей, які відповідають за відриви зв'язаних містків з негативними ε , а також від швидкості скорочення.

Таким чином, при скороченні півсаркомеру цикл перетворень кожної з груп починається з появи вільних містків з $\varepsilon \approx 2.4$ нм. Спочатку ці вільні містки починають повільно зв'язуватися (хімічні переходи $1 \rightarrow 2$) та виконувати робочий хід ($2 \rightarrow 3$). Далі, в міру зменшення ε , спочатку збільшується швидкість переходів $2 \rightarrow 3$ (при перетині $\varepsilon \approx -1.5$ нм), а потім (після $\Delta \approx -2.8$ нм) пришвидшуються переходи зв'язаних містків в вільний стан. Коли якась група містків досягає границі $\Delta \approx -3.1$ нм, відповідно до (5.6), вільні містки формують нову групу з $\Delta \approx 2.4$ нм, а зв'язані

продовжують рухатись далі вліво, доки всі вони не перейдуть в вільний стан (з відстанню до найближчого правого зв'язувального центру $\Delta + l_{an}$).

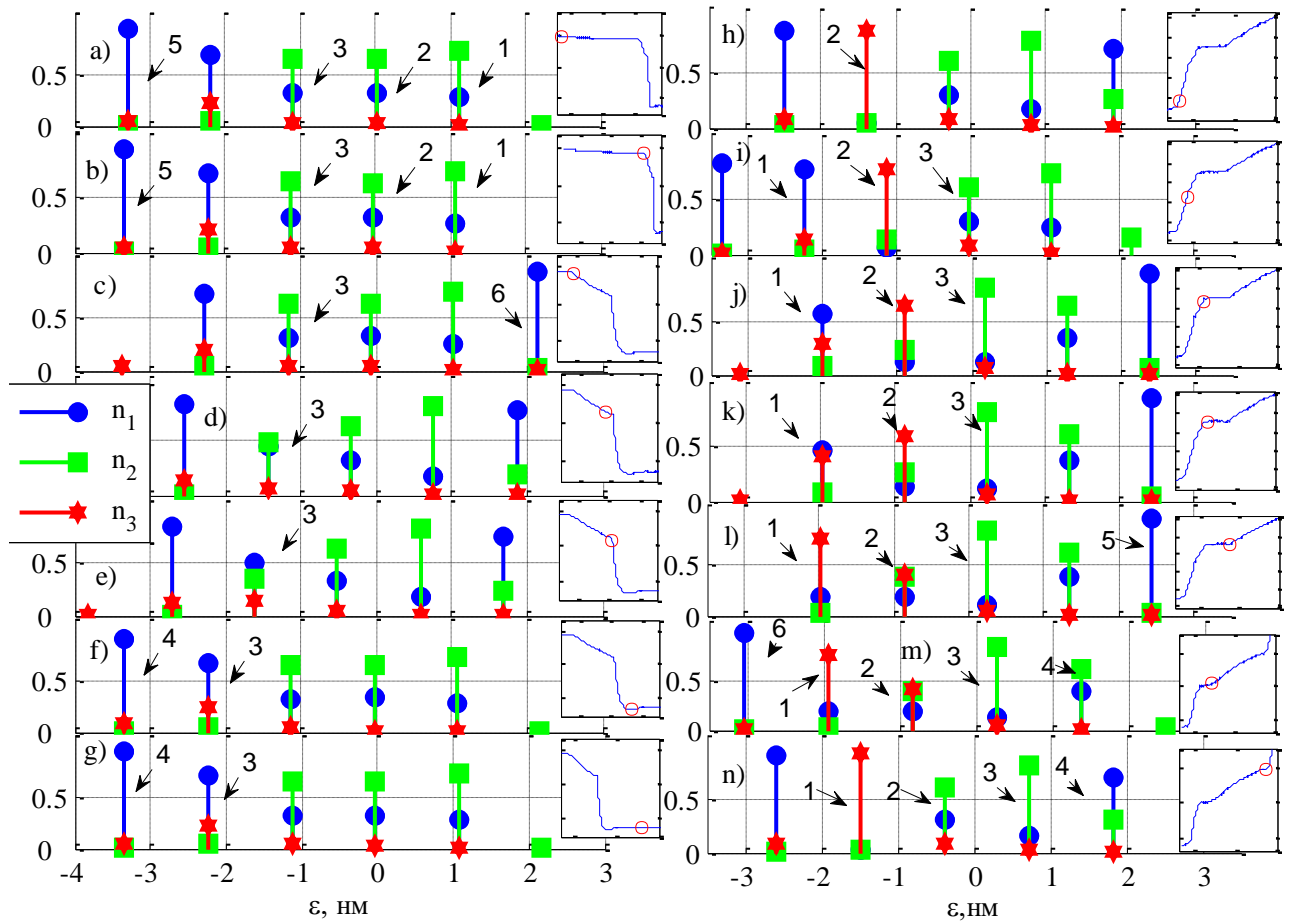


Рис. 5.6. Динаміка дискретних розподілів $n_i(\epsilon)$ заселеності поперечних містків в різних хімічних станах i , на протязі здійснення півсаркомером великомасштабної сходитки при скороченні а)-г) та при розтягуванні h)-н). Моментальні розподіли, що показані на графіках а)-г), відповідають різним моментам часу. На врізанні на кожному з графіків показані траєкторії з рис. 5.5. На кожній з цих траєкторій маркером вказана довжина півсаркомеру в той же момент часу, для якого побудований і розподіл. Заселеності для деяких з дискретних груп містків, позначені стрілками з номерами (пояснення див. в тексті).

При розтягуванні діапазон можливих ϵ ліворуч обмежений значенням -3.1 нм (в силу (5.6)), границя праворуч залежить від констант швидкостей, які відповідають за відриви зв'язаних містків з $\epsilon > 0$, а також від швидкості розтягування. На відміну від скорочення, тепер нові групи містків з'являються на границі $\epsilon \approx -3.1$ нм, потім

рухаються вправо, проходячи зворотній цикл перетворень, поки повністю не відірвуться на правій границі діапазону ε .

Аналіз динаміки внутрішнього стану півсаркомеру під час східчастої зміни його довжини рис. 5.6,a-g, дає наступну картину формування великомасштабної сходинки та плато при **скороченні** на мікроскопічному рівні:

- **Повільний дрейф на плато** (рис. 5.6,a-b), обумовлений повільним збільшенням сили завдяки повільним зв'язуванням $1 \rightarrow 2$ в слабозв'язаний стан з $\varepsilon > 0$ нм (група містків 1 на рис. 5.6,a-b), а також повільним переходам $2 \rightarrow 3$ (виконання робочого ходу) для містків, що знаходяться в діапазоні $-1.5 < \varepsilon < 0$ (група містків 2 та 3 на рис. 5.6,a-b). Зазначимо, що сильнозв'язані місткі груп 2 та 3 генерують позитивну силу, що скорочує півсаркомер, оскільки їх деформація позитивна $\varepsilon_3 = \varepsilon + d > 2.5$ нм.

- **Перша повільна фаза сходинки** починається з появи вільних містків на границі $\varepsilon \approx 2.4$ нм (група 6 на рис. 5.6,c). Під час дрейфу на плато ці вільні місткі зв'язуються з лівими зв'язувальними центрами (група містків 5 на рис. 5.6,a-b), але коли їх $\varepsilon \Delta$ перетинає границю ≈ -3.1 нм, в силу періодичних граничних умов (5.6), вільні місткі цієї групи переходять в групу 6 (рис. 5.6,c). Оскільки в новій області ε константа відриву k_{21} є меншою порівняно з негативними ε , відбувається збільшення заселеності слабозв'язаного стану в групі 5 (рис. 5.6,c-d, також див. рис. 5.3,b). Поява додаткових слабозв'язаних містків з $\varepsilon > 0$ нм призводить до збільшення сили та скорочення півсаркомеру. Також зазначимо, що місткі групи 6, що вже перейшли в слабозв'язаний стан, можуть пришвидшувати ймовірність переходу $1 \rightarrow 2$ вільних містків своєї групи (позитивний зворотний зв'язок), бо скорочуючи півсаркомер, вони зближають їх з правими зв'язувальними центрами (що, в свою чергу, збільшує для них $k_{12}(\varepsilon)$ рис. 5.3,a).

- Після першої фази сходинки розподіли $n_i(\varepsilon)$ значно зміщуються вліво (рис. 5.6,c-b). Це, зокрема, збільшує негативну деформацію слабозв'язаних містків групи 3, в кінці першої фази деформація цих містків опиняється біля межі $\varepsilon \approx -1.5$ нм (рис. 5.6,d), за якою відбувається різке збільшення $k_{23}(\varepsilon)$, рис. 5.3,a. Перетин цієї межі

(рис. 5.6,е) запускає **другу фазу східчастого скорочення** – слабозв’язані містки групи 3 починають швидко переходити в сильнозв’язаний стан (рис. 5.6,е-f), виконуючи робочий хід (деформація їх еластичного елемента збільшується на d). Ці переходи, в свою чергу, призводять до різкого зростання позитивної сили півсаркомеру та його різкого скорочення. Якщо при $\varepsilon < -1.5$ нм константа $k_{23}(\varepsilon)$ продовжує зростати, тут також працює позитивний зворотний зв’язок. Слабозв’язані містки, що вже здійснили робочий хід, скорочуючи півсаркомер, ще більше збільшують ймовірність переходу містків своєї групи, які перехід ще не здійснили.

- **Невеличке скорочення в кінці сходинок** - результат зменшення кількості сильнозв’язаних містків в групах 3 та 4 (рис. 5.6,f-g).

Таким чином, великомасштабна сходинок **при скороченні** півсаркомеру формується завдяки синхронним зв’язуванням $1 \rightarrow 2$ групи вільних поперечних містків з правими зв’язувальними центрами (перша фаза сходинок), а потім завдяки синхронним переходам $2 \rightarrow 3$, що супроводжуються виконанням робочого ходу (друга фаза).

При розтягуванні (рис. 5.6,h-n) події розгортаються до певного, зворотнім чином до подій при скороченні. Оскільки тепер розподіли зміщуються зліва направо, дискретні групи містків перетинають границі області ε з істотно різними кінетичними властивостями рис. 5.6,b також зліва направо. **Сходинок** в траєкторії розтягування - результат зменшення сили півсаркомеру внаслідок перетину однією з груп містків границі $\varepsilon \approx 1.5$ нм, що призводить до зменшення кількості сильнозв’язаних містків внаслідок їх відривів (група містків 2 на рис. 5.6,h-i). Це зменшення кількості сильнозв’язаних містків – результат зменшення k_{23} при перетині $\varepsilon > 1.5$ нм, рис. 5.3,a, містки відриваються шляхом $3 \rightarrow 4 \rightarrow 1$. **Уповільнення швидкості розтягування в кінці сходинок** - результат поступового збільшення сили, що виникає завдяки двом групам містків, які перетинають границі $\varepsilon \approx -2.5$ та $\varepsilon = 0$ нм. В групі містків, що перетинає межу $\varepsilon \approx -2.5$, збільшується кількість сильнозв’язаних містків, які генерують позитивну силу (група містків 1 на рис. 5.6,i-k). Таке збільшення їх кількості - результат збільшення k_{12} при наближенні

вільних містків цієї групи до лівих зв'язувальних центрів. Додаткове збільшення сили також дає група містків, що перетинає $\varepsilon = 0$ нм (група містків 3 на рис. 5.6,i-k). В цій групі збільшується кількість слабозв'язаних містків з позитивною деформацією. Це збільшення кількості слабозв'язаних містків - результат нелінійного зменшення k_{21} при перетині $\varepsilon > 0$ нм. **Коротке плато після сходинки** (рис. 5.5,b ділянка 3) - результат подальшого збільшення кількості сильнозв'язаних містків в групі 1 (рис. 5.6,k-l). Сила стає такою, що розтягування півсаркомеру майже зупиняється. Пришвидшення дрейфу на плато (рис. 5.5,b ділянка 4) пов'язано з зупинкою росту сили завдяки групам 1 та 3 (рис. 5.6,m-n) на фоні продовження зменшення сили завдяки групі 2 (рис. 5.6,m-n), кінетика цієї стадії визначається кінетикою хімічних змін в групі 2.

Дивлячись на механізм сходинки при розтягуванні в цілому (рис. 5.6,h-n), можна представити його як зменшення сили в групі містків 2 на протязі всієї сходинки, яке модулюється більш короткотривалими змінами сили на протязі різних фаз сходинки завдяки іншим групам.

З розглянутого механізму формування сходинок при скороченні та розтягуванні бачимо, що основною причиною синхронізації дії поперечних містків в півсаркомері з дискретною ґраткою є різкі зміни їх кінетичних властивостей при змінах довжини останнього. Такі зміни можливі при наявності дискретності деформацій та нелінійностей залежності констант швидкостей $k_{ij}(\varepsilon)$ від деформації. Ще одна необхідна умова полягає в тому, що з хімічними переходами, швидкості яких піддаються різким змінам, мають бути сполучені зі змінами деформації еластичних елементів поперечних містків чи змінами фракції зв'язаних містків.

Величина сходинок. З наведеного аналізу також стає зрозумілим, чому повна амплітуда сходинок на рис. 5.5 співпадає зі значенням періоду s (5.2). Періодичний характер траєкторій також означає періодичність змін стану популяції поперечних містків. Ця зміна відбувається в просторі ε та часі. Дискретність розподілів заселеності поперечних містків накладає обмеження на величину періоду просторових змін, механохімічний стан популяції поперечних містків може

повторитись тільки при зміщеннях розподілів на величину, яка кратна відстані s (відстані між сусідніми стовпчиками розподілів).

В нашій моделі цикл змін розподілів триває доти, доки кожна з груп містків не займає місце сусідньої групи (з найближчим значенням ε до її власного), яке вона мала на початку циклу (наприклад, група 2 в кінці циклу, рис. 5.6,f, займе місце групи 3, яке вона мала на початку циклу, рис. 5.6,f), тому сумарна амплітуда сходинки буде співпадати зі значенням s . Теоретично також можливий сценарій, коли цикл буде тривати декілька s , в такому випадку величина мінімальної великомасштабної сходинки буде в стільки ж раз більшою за s .

В формуванні великомасштабних сходинок, які є більшими за мінімальну (1.1 нм) в ціле число разів (рис. 5.2), ключову роль може відігравати шум. Кожна з таких великих сходинок складається з декількох мінімальних, що трапляються в часі майже одна за одною. Відносна кількість таких великих сходинок починає збільшуватись зі збільшенням швидкості скорочення чи розтягування. Півсаркомер скорочується з великою швидкістю при навантаженнях, що є значно меншими за ізометричне. Малі навантаження будуть збільшувати ймовірність хімічних переходів, що призводять до скорочення, також такі переходи, в середньому, будуть викликати більше скорочення довжини, ніж при великих навантаженнях. Це зменшує тривалість пауз великомасштабних сходинок та робить більш ймовірною подію, коли декілька хімічних переходів, що викликають скорочення, виникнувши один за одним, перекинуть групу містків з деформаціями, що є близькими до $\varepsilon \approx -1.5\text{нм}$ через це граничне значення. При навантаженнях, які є значно більшими за ізометричне, буде, навпаки, збільшуватися ймовірність та величина механічної реакції хімічних переходів, що призводять до розтягування, і це, знову ж таки, призводить збільшення ймовірності перетину $\varepsilon \approx -1.5\text{нм}$ зліва направо.

Відмінність мінімальної величини великомасштабних сходинок, отриманих в моделі (1.1 нм), від експериментального значення (2.7нм) пов'язана з вибором параметрів l_{an} та l_{mn} в моделі. При розробці моделі не стояла мета отримати східчасті зміни довжини, подібні до експериментальних. Використаний набір параметрів моделі був, в першу чергу, оптимізований для симуляції залежності

сила-швидкість в ізотонічному режимі та розтягування півсаркомеру в ізокінетичному режимі. Обравши інші l_{an} та l_{mn} , відповідно до (5.1) та (5.2), ми можемо отримати висоту сходинки, що в тому числі дорівнює ≈ 2.7 нм. Крім того, як ми бачили, часові характеристики окремих фаз сходинки, а також їх вклад в загальну амплітуду сходинки залежать від $k_{ij}(\varepsilon)$, то ж сценарій молекулярного механізму, отриманий в рамках нашої моделі, не є єдино можливим. Узагальнення механізму потребують подальших більш систематичних досліджень.

Також з отриманих результатів бачимо, що величина робочого ходу d прямого впливу на величину сходинки не має. Вона може обмежувати величину великомасштабної сходинки зверху.

5.2. Висновки до розділу

Стохастична модель демонструє наявність колективних ефектів в роботі сукупності поперечних містків. Зокрема в ізотонічному режимі, при навантаженнях, близьких до ізометричного, в часовому масштабі, що є значно більшим за час хімічного перетворення окремих містків, ковзання півсаркомеру відбувається по східчастій траєкторії. Статистика сходинок, а також її залежність від швидкості ковзання, є якісно схожими до такої, що спостерігається в експерименті. У випадку скорочення, сходинки виникають завдяки синхронному виконанню робочого ходу великою групою поперечних містків, а також синхронному зв'язуванню групи вільних. Під час розтягання сходинка є наслідком синхронних відривів містків з сильнозв'язаного стану.

Можна виділити три основні чинники, що лежать в основі синхронізації роботи містків при ізотонічному ковзанні: 1) механічна сполученість містків, завдяки тому, що вони є вбудованими в спільну ґратку філаментів. 2) Залежність кінетики механохімічних переходів містків від їх деформації. Причому, залежність кінетики від деформації має носити нелінійний характер. 3) Важливим фактором є дискретність ґратки філаментів. В такий ґратці відстань між зв'язувальним центром та поперечним містком і деформація останнього є дискретними. Як наслідок, всі містки можуть бути розділені на ряд дискретних груп за їх механохімічними

властивостями. Для кожної з таких груп кінетичні властивості містків будуть змінюватись однаковим чином.

Синхронність переходів може підсилюватися завдяки наявності позитивних зворотних зв'язків між змінами довжини півсаркомеру після хімічних переходів містків та швидкістю цих переходів.

Величину кроку сходинок головним чином визначають геометричні параметри ґратки філаментів. Крок є кратним періоду дискретного набору деформацій еластичного елемента поперечних містків, яка, в свою чергу, залежить від періодичності розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів на товстих та тонких філаментах відповідно (періоди l_{mn} та l_{an}).

Східчасте ковзання, отримане в моделі, є якісно схожим з таким, що спостерігається експериментально [3-6]. Подібність стосується характеру розподілу сходинок, залежності форми цих розподілів від швидкості ковзання. Разом з тим, величина сходинок траєкторій моделі відрізняється від експериментального значення. Але використовуючи отримані закономірності залежності величини сходинок від геометричних параметрів дискретної ґратки, є потенційно можливим обрати параметри моделі таким чином, аби модель відтворювала сходинок, мінімальна висота яких співпадала б з експериментальним значенням (2.7 нм).

Основні положення цього розділу опубліковані в наступних роботах [132-134]

РОЗДІЛ 6. ДЕТЕРМІНІСТИЧНА ПРОСТОРОВО РОЗПОДІЛЕНА МОДЕЛЬ САРКОМЕРУ З ДИСКРЕТНОЮ ГРАТКОЮ

Стохастичні просторово розподілені моделі, подібні до використаної нами в попередніх розділах, часто використовуються в сучасних теоретичних дослідженнях роботи м'язів [8-10]. Моделі такого типу мають ряд переваг порівняно з моделями, що побудовані в рамках класичного формалізму Хакслі [24]. Такі моделі деталізують стан скорочувальної системи до рівня механохімічного стану окремих поперечних містків. Крім того, зберігаючи інформацію про особливості геометрії ґратки саркомеру, цей підхід більш реалістично відтворює взаємодію поперечних містків між собою та зв'язувальними центрами, явним чином дозволяє врахувати наявність еластичності скорочувальних філаментів. Важливість врахування структури саркомеру показують теоретичні дослідження, які були виконані в рамках підходу, що використовує просторово розподілені моделі. Приклади цього можна бачити з результатів наших власних досліджень, наведених в попередніх розділах. Результати робіт [10, 21, 22] показують наявність впливу структури на кінетику взаємодій міозину з актином, числа обертів міозину, здатність м'язу генерувати силу, Ca^{2+} активацію тонких філаментів. В подібних моделях в роботі популяції поперечних містків з'являються кооперативні ефекти, що є відсутніми в безперервних моделях, побудованих на формалізмі Хакслі [21, 22]. Флуктуації, що виникають в такій моделі, завдяки випадковості кінетичних перетворень містків також можуть мати окреме значення в функціонуванні скорочувального апарату. Можливість симулювати в рамках даного підходу роботу скорочувальної системи, що утворена з обмеженої кількості скорочувальних філаментів, є актуальною у зв'язку з експериментальним вивченням подібних систем [6, 135, 136].

Разом з тим, цей підхід має і свої недоліки. Моделі, що побудовані в рамках цього підходу, можуть потребувати значних обчислювальних ресурсів, оскільки симуляція біохімічних переходів в цьому підході здійснюється методом Монте-Карло. Використовуючи окремі реалізації процесу роботи стохастичної системи, може бути складно отримати загальні властивості цього процесу, закономірності його залежності від параметрів. Відокремити ці закономірності від випадкових

флуктуацій не у всіх випадках можливо усередненням окремих реалізацій. Те, що модель оперує випадковими реалізаціями, може створювати проблеми при оптимізації, параметричній ідентифікації моделі, аналізі її чутливості чи при аналізі результатів моделі.

То ж, бажаним є побудова моделі, що дозволила б пришвидшити симуляцію та оперувала б середніми, одночасно ця модель має враховувати інформацію про структуру ґратки саркомеру. В цьому розділі ми розробимо підхід, який дозволяє отримати детерміністичну апроксимацію стохастичної просторової розподіленої моделі, в якій розглядається взаємодія пари жорстких скорочувальних філаментів. Вихідною точкою для побудови детерміністичної апроксимації є зроблене в попередньому розділі спостереження про те, що в моделі з дискретною ґраткою деформації еластичних елементів всіх поперечних містків в півсаркомері є дискретними, а отже, поперечні містки, що мають однакову деформацію, також будуть мати однакові хімічні властивості (див. розділ 5.1.2). Завдяки цьому всі поперечні містки можуть бути розбиті на кінчену кількість груп за їх деформаціями (хімічними властивостями) і при великій кількості містків в кожній групі, замість симуляції стану окремого містка групи, можна статистично моделювати стан всієї групи, використовуючи відповідні кінетичні рівняння. Апроксимація зберігає інформацію про просторову структуру ґратки філаментів, вона побудована з використанням звичайних диференціальних рівнянь (ЗДР), на відміну від стохастичної моделі, оперує середніми. Для перевірки адекватності апроксимації ми здійснимо симуляцію ізотонічного скорочення в стохастичній просторово розподіленій та детерміністичній моделях та порівняємо їх результати.

Ми також покажемо, що запропонований детерміністичний підхід може бути використаний для апроксимації рішень моделей, заснованих на формалізмі Хакслі [24], в диференційних рівняннях в частинних похідних (ДРЧП). Тож ми також перевіримо адекватність такої апроксимації, порівняємо чисельну стабільність запропонованого методу та чисельних методів, що використовуються для рішення ДРЧП.

В попередньому розділі, використовуючи стохастичну просторово розподілену модель, ми аналізували природу східчастого ковзання в ізотонічному режимі (розділ 5), порівнювали результати моделі та експерименту. В цьому розділі, використовуючи детерміністичну модель, ми продовжимо більш систематичне дослідження цього явища. Заміняючи ЗДР на СДР в детерміністичній моделі та порівнюючи результати симуляції в рамках цих двох варіантів, ми дослідимо вплив шуму на формування сходинок з величиною, яка в декілька разів більша за елементарну. Використовуючи закономірності, що були отримані в попередньому розділі та варіюючи параметри ґратки, ми проаналізуємо їх вплив на величину сходинок, що формуються в траєкторії, спробуємо видворити в моделі величину сходинки, висота якої дорівнює експериментальному значенню. Перевага використання детерміністичної моделі тут полягає в тому, що детерміністична траєкторія дозволяє отримати величину кроку без застосування статистичних методів детекції сходинок в стохастичній траєкторії.

6.1. Просторово розподілена стохастична модель пари скорочувальних філаментів

Ми шукали апроксимацію для стохастичної просторово розподіленої моделі, в якій розглядається пара з одного товстого та тонкого філаментів, рис. 6.1, які ми будемо вважати нерозтяжними. На товстому філаменту розташовані N поперечних містків, здатних взаємодіяти зі зв'язувальними центрами на актині, вони розташовані з періодом l_m . В один і той же час, тільки одна з двох голівок поперечного містка здатна взаємодіяти з актином. На тонкому філаменті є безкінечна кількість зв'язувальних центрів, відстані між якими l_{an} . Товстий філамент є нерухомим, тонкий може переміщуватися в поздовжньому напрямку під дією сил зв'язаних з ним поперечних містків, а також зовнішньої сили F_{ext} . Сила, що діє на актин з боку зв'язаних поперечних містків, виникає як результат деформації їх еластичного елемента, який має жорсткість k_{cb} .

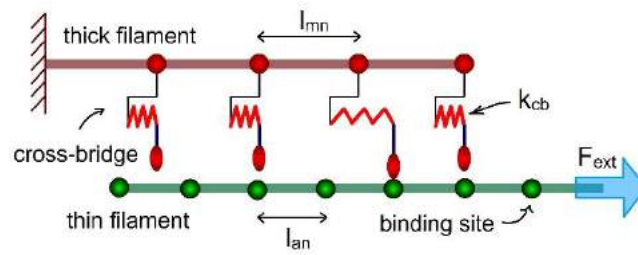
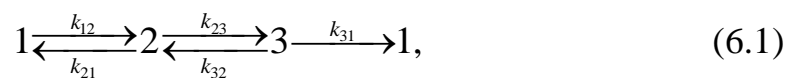


Рис. 6.1. Скорочувальна система, що складається з однієї пари товстий-тонкий філамент.

В загальному випадку механохімічний цикл поперечного містка може включати декілька вільних та зв'язаних станів. Далі будемо розглядати кінетичний цикл, що включає 3 стани:



де цифрами позначені номери хімічних станів: стан 1 – вільний стан поперечного містка; стани 2 та 3 – зв'язані стани; k_{ij} – константи швидкості для хімічного переходу $i \rightarrow j$. Переходи $1 \rightarrow 2$ та $2 \rightarrow 3$ можуть супроводжуватися конформаційними змінами міозинової головки, які збільшують деформацію його еластичного елемента на величину d_1 та d_2 відповідно. Перехід $3 \rightarrow 1$ супроводжується здійсненням відновлювального ходу величиною $-\sum_{i=1}^2 d_i$.

перетворення окремого поперечного містка є випадковою подією, симуляція цих подій здійснюється за допомогою методу Монте-Карло [9].

Передбачається, що в загальному випадку константи швидкості k_{ij} є функціями деформації еластичного елемента поперечного містка, яка в свою чергу залежить від взаємного аксіального розташування поперечного містка та зв'язувального центру, з яким він взаємодіє. Будемо вважати, що товстий філамент повністю перекритий тонким. Кожен з містків характеризується відстанню від рівноважного положення міозинової голівки в вільному стані до найближчого від неї зв'язувального центру праворуч. В силу періодичності розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів, ця відстань буде дискретною величиною. При даному взаємному розташуванні товстого та тонкого філаментів ця відстань буде приймати значення з дискретного набору, який ми позначимо як

$\Delta = \{\Delta^1, \dots, \Delta^k, \dots, \Delta^M\}$, де $\Delta^{k+1} > \Delta^k$. Розмір M та значення множини Δ залежать від періодичності розташування поперечних містків l_{mn} та зв'язувальних центрів l_{an} , а також від кількості поперечних містків N .

Встановимо характеристики дискретної множини Δ для випадку безкінечно довгих товстого та тонкого філаментів. Обравши поперечний місток з номером i вздовж товстого філаменту, рис. 6.2, можна знайти місток з номером $i + T_{cb}$, який буде мати таку ж відстань до найближчого праворуч зв'язувального центру на актині, як i у i -го. Відстані до найближчого праворуч зв'язувального центру поперечних містків з i -го по $i + T_{cb} - 1$ -й утворюють патерн з унікальними значеннями. Починаючи з містка $i + T_{cb}$ цей патерн буде повторюватись. Відсортована сукупність всіх значень цього патерну буде складати множину Δ . Розмір множини Δ буде складати $M = T_{cb}$.

Величина T_{cb} пов'язана з параметрами ґратки наступним чином:

$$l_{mn}T_{cb} = l_{an}T_{bs} \quad (6.2)$$

де T_{cb} і T_{bs} невідомі цілі числа, причому вони повинні бути найменшими з можливих. Відстань s між будь-якими сусідніми значеннями з Δ буде складати:

$$s \equiv \Delta^{k+1} - \Delta^k = l_{mn}/T_{bs} = l_{an}/T_{cb}, \quad (6.3)$$

елементи множини Δ будуть мати наступні значення:

$$\Delta^k = ks + C, \quad k = 1, \dots, T_{cb}, \quad \Delta^k \in [0, l_{an}) \quad (6.4)$$

де значення константи C залежить від поточного взаємного зміщення товсто та тонкого філаментів.

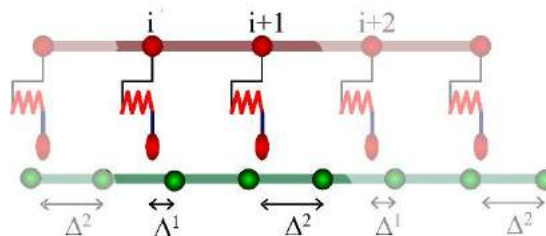


Рис. 6.2. Приклад решітки пари тонкий-товстий філамент, для якої множина Δ складеться з двох значень $\{\Delta^1, \Delta^2\}$. Для поперечних містків з

номерами $i+T_{cb}k$ та $i+T_{cb}k+1$, де $T_{cb}=2$, а k - ціле, відстань до найближчого праворуч зв'язувального центру дорівнює Δ^1 та Δ^2 відповідно

Для товстого філаменту скінченної довжини кількість містків N в загальному випадку не буде співпадати з T_{cb} . Якщо $N < T_{cb}$, тоді $M = N$; в поточній множині Λ будуть присутні не всі значення з набору (6.4). Сусідні значення Δ^k в такому неповному наборі будуть відрізнятися на величину, що є кратною s . Коли $N > T_{cb}$ та N не кратний T_{cb} , $M = T_{cb}$ та набір Λ буде включати всі значення (6.4), але розподіл цих значень серед N поперечних містків буде мати нерівномірний характер.

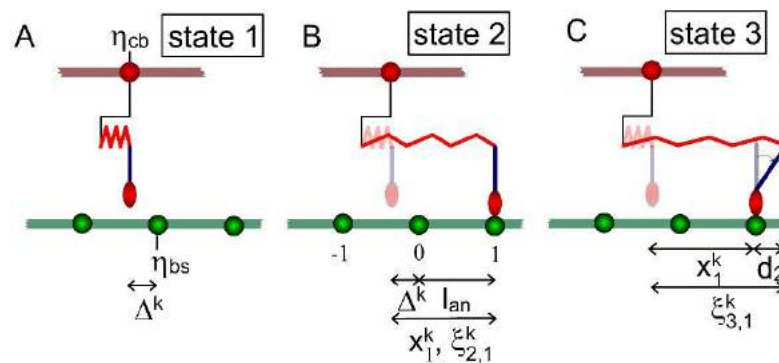


Рис. 6.3. Співвідношення між величинами Δ^k , x_r^k та $\xi_{i,r}^k$ для поперечного містка в різних хімічних станах. На малюнках А-С. показаний один і той же поперечний місток в різних станах при однаковому взаємному зміщенні товстого та тонкого філаментів. А. В вільному стані 1, відстань між міозиною голівкою та найближчим від неї справа зв'язувальним центром дорівнює Δ^k . В. Під зв'язувальними центрами на актині, показані їхні відносні номери. Місток зв'язаний з 1-м зв'язувальним центром тому $x_1^k = \Delta^k + l_{an}$. В зображеному прикладі перехід $1 \rightarrow 2$ не супроводжується конформаційними змінами містка ($d_1=0$), тому значення деформації еластичного елемента поперечного містка $\xi_{2,1}^k$ буде співпадати з x_1^k . С. Перехід $2 \rightarrow 3$ супроводжується виконанням робочого ходу величиною d_2 , тому при переході в стан 3 деформація еластичного елемента поперечного містка збільшиться на d_2 : $\xi_{3,1}^k = x_1^k + d_2$.

Взаємне розташування поперечних містків та зв'язувальних центрів буде визначати величину деформації еластичних елементів зв'язаних поперечних містків, а також ймовірності переходів в механохімічному циклі. Окрім хімічного стану, кожен з поперечних містків характеризується відстанню x_r до зв'язувального центру з відносним номером r , з яким відбувається його взаємодія, рис. 6.3. Відстань від

поперечного містка до зв'язувального центру з відносним номером r , з яким відбувається його взаємодія (рис. 6.3) дорівнює:

$$x_r^k = \Delta^k + rl_{an}, \quad r = -m, \dots, n \quad (6.5)$$

Зв'язувальні центри нумеруються так, що найближчий правий зв'язувальний центр від містка має номер $r = 0$, а лівий $r = -1$ і так далі.

Величина деформації еластичного елемента поперечного містка може бути виражена через x_r^k наступним чином, рис. 6.3:

$$\xi_{i,r}^k(x_r^k) = \begin{cases} x_r^k = \Delta^k + rl_{an} & i = 1 \\ x_r^k + \sum_{k=1}^{i-1} d_k = \Delta^k + rl_{an} + \sum_{k=1}^{i-1} d_k & i = 2, 3 \end{cases} \quad (6.6)$$

де $\xi_{i,r}^k$ - деформація еластичного елемента поперечного містка, що знаходиться в i -му хімічному стані. Для вільного стану $\xi_{1,r}^k$ - це деформація, яку повинен одержати еластичний елемент поперечного містка внаслідок його випадкових теплових рухів для успішного зв'язування з r -м зв'язувальним центром.

6.2. Детерміністична апроксимація

Усунути стохастичність в системі з пари філаментів (рис. 6.1) можна, з'єднавши паралельно (або послідовно) велику кількість таких пар (рис. 6.4). Стан такої об'єднаної системи буде представляти середнє по всіх можливих реалізаціях стану системи з пари філаментів в даний момент часу. Динаміка стану об'єднаної системи може бути описана з використанням системи звичайних диференціальних рівнянь. Далі ми отримаємо цю систему, а також процедуру її чисельного розв'язку.

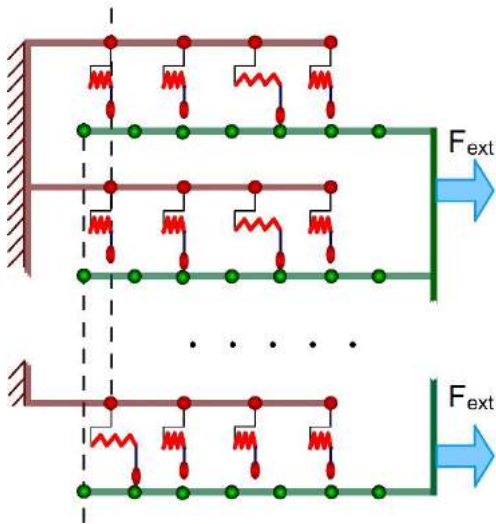


Рис. 6.4. Скорочувальна система, що складеться з багатьох пар товстий-тонкий філамент, з'єднаних паралельно.

Розглянемо деталі скорочувальної системи, що складається з великої кількості паралельно з'єднаних пар тонкий-товстий філамент (рис. 6.4). В цій системі всі товсті філаменти є жорстко зв'язаними між собою, причому, будь-які два поперечних містки з однаковим номером на різних товстих філаментах мають однакову поздовжню координату (рис. 6.4). Те саме вірно для тонких філаментів та зв'язувальних центрів на них. Завдяки тому, що філаменти та їх з'єднання між собою є жорсткими при взаємному ковзанні товстих та тонких філаментів, відстані Δ^k всіх поперечних містків будуть змінюватися однаково. Тобто всі пари філаментів в будь-який момент часу будуть мати однакові набори Δ .

Виходячи з цього, вся сукупність поперечних містків може бути розбита на скінчену кількість (M) груп за їхньою відстанню до найближчого зв'язувального центру праворуч. В межах кожної з груп всі поперечні містки, що взаємодіють з r -м зв'язувальним центром, будуть мати однакові кінетичні властивості. Якщо кількість поперечних містків в кожній з груп є достатньо великою, її стохастичний опис можна замінити детерміністичним. Для опису кожної з груп були використані відповідні кінетичні рівняння. Далі отримаємо ці рівняння.

Будемо вважати, що вільні містки можуть зв'язуватися тільки з найближчими зв'язувальними центрами праворуч чи ліворуч. З урахуванням цього, кінетичні рівняння, що визначають динаміку заселеності зв'язаних поперечних містків, які

мають відстань до найближчого до них праворуч зв'язувального центра Δ^k , мають наступний вигляд:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dC_{2,r}^k}{dt} = k_{12}(x_r^k)C_1^k + k_{32}(x_r^k)C_{3,r}^k - [k_{21}(x_r^k) + k_{23}(x_r^k)]C_{2,r}^k, \quad r \in (-1,0) \\ \frac{dC_{2,r}^k}{dt} = k_{32}(x_r^k)C_{3,r}^k - [k_{21}(x_r^k) + k_{23}(x_r^k)]C_{2,r}^k, \quad r \in (-m, \dots, -2, 1, \dots, n) \\ \frac{dC_{3,r}^k}{dt} = k_{23}(x_r^k)C_{2,r}^k - [k_{32}(x_r^k) + k_{31}(x_r^k)]C_{3,r}^k, \quad r \in (-m, \dots, 0, \dots, n) \end{array} \right.$$

(6.7)

де $C_{i,r}^k \equiv C_{i,r}^k(x_r^k)$ – частка зв'язаних поперечних містків у хімічному стані i які взаємодіють з r -м зв'язувальним центром, що знаходиться на відстані x_r^k у момент t та $C_1^k \equiv C_1^k(\Delta^k, t)$ – частка вільних поперечних містків у хімічному стані i що мають відстань $x_1^k = \Delta^k$ до найближчого справа зв'язувального центру у момент t . Сукупність всіх $C_{i,r}^k$ ми будемо позначати як $C_i = \{C_{i,r}^k \mid k=1..M, r=-m..n\}$.

Умова нормування має враховувати той факт, що зв'язані поперечні містки з $x_r^k = \Delta^k + rl_{an}$, $r \in (-m, \dots, n)$ після переходу в вільний стан будуть поповнювати групу вільних містків з відстанню до найближчого зв'язувального центру праворуч Δ^k . Умова нормування має наступний вигляд:

$$C_1^k + \sum_{i=2}^3 \sum_{r=-m}^n C_{i,r}^k = 1 \quad (6.8)$$

Відстань $\Delta^k \in [0; l_{an})$ є циклічною величиною, досягнувши лівої границі свого інтервалу вона переходить на праву та навпаки. Тоді як відстань $x_r^k \in [rl_{an}, (r+1)l_{an})$ при досягненні лівої границі буде перетворюватися на x_{r-1}^k , а при досягненні правої - на x_{r+1}^k відповідно, на заселеності мають бути накладені наступні граничні умови:

$$\begin{array}{l} C_{i,r}^k((r+1)l_{an}) = C_{i,r+1}^k((r+1)l_{an}), \quad i=2,3, \quad r \in (-m+1, \dots, n-1) \\ C_{i,-m}^k(-ml_{an}) = 0, \quad C_{i,n}^k((n+1)l_{an}) = 0 \quad i=2,3 \end{array} \quad (6.9)$$

Система рівнянь (6.7) має бути доповнена механічними рівняннями, що визначають зміну в часі положення актину y_{an} . В ізотонічному режимі, якщо зневажити силою інерції, це рівняння має вигляд:

$$\beta_{an} \frac{dy_{an}}{dt} = (F_{cb} + F_{ext})N \quad (6.10)$$

де β_{an} - коефіцієнт в'язкого тертя тонких філаментів, F_{cb} - середня сила зв'язаних поперечних містків, F_{ext} - зовнішнє навантаження; обидві сили перераховані на один поперечний місток. Сила F_{cb} обчислюється наступним чином:

$$F_{cb} = -\frac{k_{cb}}{N} \sum_{k=1}^M \sum_{i=2}^3 \sum_{r=-m}^n p_k \xi_{i,r}^k C_{i,r}^k \quad (6.11)$$

де p_k представляє кількість поперечних містків однієї пари скорочувальних філаментів, що мають відстань до найближчого зв'язувального центру праворуч Δ^k . У випадку $N \leq T_{cb}$ всі N поперечних містків однієї пари скорочувальних філаментів мають різні Δ^k , тоді $M = N$ та всі $p_k = 1$. Якщо ж $N > T_{cb}$, деякі з поперечних містків пари будуть мати однакові значення Δ^k , в цьому випадку p_k буде дорівнювати кількості поперечних містків, що мають відстань до найближчого зв'язувального центра праворуч Δ^k , $M = T_{cb}$.

Для чисельного розв'язання системи (6.7), (6.8) та (6.10) з граничними умовами (6.9) використовується наступний алгоритм:

1. Задаємо початкові умови для: $y_{an}(0)$, $C_{i,r}^k(0)$ ($k=1..M$). Для заданого $y_{an}(0)$ знайдемо відповідний набір Δ , отримані значення збережемо в наборі змінних $u^k(0) = \Delta^k$. Індокси найменшого та найбільшого елемента серед $u^k(0)$ збережемо в змінних k_{\min} та k_{\max} відповідно (на цьому етапі $k_{\min} = 1$ та $k_{\max} = M$). Також створимо набір допоміжних величин u_0^k , їх значення задаємо як $u_0^k = \Delta^k$. Обчислимо значення p_k .
2. Чисельно розв'язуємо систему рівнянь (6.7), (6.8) та (6.10) до моменту, коли $u^{k_{\min}}(t)$ або $u^{k_{\max}}(t)$ перетнуть ліву чи праву границю інтервалу $[0; l_{bs}]$ відповідно (поточні значення $u^k(t)$ обчислюється як: $u^k(t) = u_0^k + y_{an}(t)$)

3. У момент t_{fpt} перетину границі інтервалу $[0; l_{bs}]$ зупиняємо чисельний розв'язок, формуємо нові початкові умови для $C_{i,r}^k(0)$, $y_{an}(0)$, змінюємо значення u_0^k , k_{\max} та k_{\min} , наращуємо загальний час на t_{fpt} й вертаємося до п.2. Нові початкові умови й нове значення u_0^k залежать від того, подія перетину якої з границь $[0; l_{bs}]$ сталася:

а. якщо $u^{k_{\min}}(t)$ перетинає 0 (це може відбуватися при скороченні), то новими початковими умовами та u_0^k будуть:

$$C_{i,r}^{k \neq k_{\min}}(0) = C_{i,r}^{k \neq k_{\min}}(t_{fpt}), \quad i = 2, 3, \quad r = -m, \dots, n$$

$$C_{i,n}^{k_{\min}}(0) = 0, \quad C_{i,r-1}^{k_{\min}}(0) = C_{i,r}^{k_{\min}}(t_{fpt}), \quad i = 2, 3, \quad r = -m + 1, \dots, n$$

$$y_{an}(0) = y_{an}(t_{fpt}),$$

$$u_0^{k_{\min}}(0) = u^{k_{\min}}(t_{fpt}) + l_{bs}$$

$$k_{\max} = k_{\min}(t_{fpt})$$

$$k_{\min} = (k_{\min}(t_{fpt}) \bmod M) + 1$$

(остання операція збільшує значення k_{\min} на 1, маючи на увазі її циклічний характер $k_{\min} : k_{\min} = M + 1 \equiv 1$)

б. якщо $u^{k_{\max}}(t)$ перетинає l_{bs} (при розтягуванні):

$$C_{i,r}^{k \neq k_{\max}}(0) = C_{i,r}^{k \neq k_{\max}}(t_{fpt}) \quad i = 2, 3, \quad r = -m, \dots, n$$

$$C_{i,m}^{k_{\max}}(0) = 0, \quad C_{i,r+1}^{k_{\max}}(0) = C_{i,r}^{k_{\max}}(t_{fpt}) \quad i = 2, 3, \quad r = -m \dots n - 1$$

$$y_{an}(0) = y_{an}(t_{fpt}),$$

$$u_0^{k_{\max}} = u_0^{k_{\max}} - l_{bs}$$

$$k_{\min} = k_{\max}$$

$$k_{\max} = ((k_{\max} - 2) \bmod M) + 1$$

(остання операція зменшує значення k_{\max} на 1, маючи на увазі її циклічний характер, $k_{\max} = 0 \equiv M$).

4. Усю процедуру повторюємо доти, доки загальний час не досягне кінцевого часу симуляції.

В отриману детерміністичну модель також може бути доданий шум, пов'язаний з випадковістю кінетичних переходів, для цього систему ЗДР (6.7) що

мають загальну форму $dC_{i,r}^k / dt = f(C_{i,r}^k)$ можна замінити системою стохастичних диференційних рівнянь (СДР) що мають вигляд:

$$dC_{i,r}^k = f(t, C_{i,r}^k)dt + g dW \quad (6.12)$$

де g – коефіцієнт дифузії, W – Вінерівський процес.

6.3. Апроксимація рішень моделі що заснована на формалізмі Хакслі

Запропоновану детерміністичну модель також можна використовувати в якості апроксимації рішень моделей, заснованих на формалізмі Хакслі [24], з умовами нормування, які відповідають (6.8). Цей формалізм передбачає, що відстань від поперечного містка до найближчого зв'язувального центру є безперервною величиною. Якщо в скорочувальній системі з дискретною ґраткою розмір дискретної множини Δ відстаней від міозинових голівок до зв'язувальних центрів наближається до безкінечності, ця величина стає безперервною, і така скорочувальна система може бути описана ДРЧП моделлю, побудованою в рамках формалізму Хакслі. У випадку розглянутої вище скорочувальної системи, яка складається з великої кількості пар тонкий-товстий філамент (рис. 6.4), цю ситуацію можна відтворити, якщо надати тонким філаментам взаємні аксіальні зміщення з діапазону $(0, l_{an}]$. Припустимо, що в результаті цього набір Δ складається з наступних значень:

$$\Delta^k = (k-1) \frac{l_{an}}{K}, \quad k = 1, \dots, K \quad (6.13)$$

У випадку, коли K наближається до безкінечності, в межах формалізму Хакслі, така скорочувальна система може бути описана наступною системою рівнянь:

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_2(t, x)}{\partial t} &= v \frac{\partial C_2(t, x)}{\partial x} + k_{12}(x)C_1 + k_{32}(x)C_3 - [k_{21}(x) + k_{23}(x)]C_2 \\ \frac{\partial C_3(t, x)}{\partial t} &= v \frac{\partial C_3(t, x)}{\partial x} + k_{23}(x)C_2 + k_{43}(x)C_4 - [k_{32}(x) + k_{34}(x)]C_3 \end{aligned} \quad (6.14)$$

де $C_i(t, x)$ – розподіл частки зв'язаних поперечних містків в біохімічному стані i по координаті $x \in [-ml_{an}, nl_{an}]$, та $C_i(t, -ml_{an}) = C_i(t, nl_{an}) = 0$, $i \in 2, 3$. Умовам нормування (6.8) моделі з дискретною ґраткою в безперервній моделі відповідають:

$$C_1(t, \Omega_j) + \sum_{i=2}^3 \sum_{k=-m}^n C_i(t, \Omega_k) = 1, \quad j = -m, \dots, n \quad (6.15)$$

де $\Omega_k \in [kl_{bs}, (k+1)l_{bs})$.

Рішення ЗДР модель зі скінченим набором Λ (6.13) будуть апроксимувати рішення безперервної ДРЧП моделі (6.14), (6.15).

6.4. Ізотонічний відгук на східчасті зміни сили

Далі ми наведемо результати симуляції ізотонічного скорочення в рамках стохастичної просторово розподіленої моделі, її детерміністичної апроксимації, що використовує ЗДР та її стохастичному варіанті з СДР. В рамках стохастичної моделі, що використовує симуляцію Монте-Карло, а також її детерміністичної апроксимації ми відтворимо стрибкоподібне ковзання в цьому режимі та порівняємо результати двох цих моделей для оцінки адекватності апроксимації. В рамках детерміністичної моделі ми проаналізуємо механізм цієї динаміки, зв'язок її параметрів з геометричними параметрами ґратки. Замінивши ЗДР (6.7) на СДР (6.12), розглянемо роль шуму. Порівняємо результати моделі з експериментом.

6.4.1. Параметри симуляції.

Розглянемо параметри, що є спільними для всіх моделей, які використовувались для симуляції (0). Механохімічний цикл поперечних містків включав 3 стани (схема (6.1)). Припускалось, що перший зв'язаний стан (стан 2 на схемі (6.1)) є слабо зв'язаним, перехід $1 \rightarrow 2$ не сполучений з виконанням робочого ходу ($d_1 = 0$ нм). В другому зв'язаному стані поперечний місток є сильно зв'язаним з актином, перехід $2 \rightarrow 3$ супроводжується виконанням робочого ходу величиною $d_2 = 8$ нм. Залежність констант швидкості прямих переходів від відстані x наведена в 0, рис. 6.5 В.

Константи швидкості зворотних переходів знаходились із співвідношення $k_{ji} = k_{ij} \exp[(G_j - G_i)]$, де $G_i(x) = k_{cb}(x + \sum_{k=1}^{i-1} d_k)^2 / 2 + G_i^0$ – залежність вільної енергії стану i від відстані x , рис. 6.5 А. В наведених рівняннях G_i та G_i^0 в одиницях $k_B T$, де k_B стала Больцмана, а $T = 300$ К – абсолютна температура. Обрані параметри

мають ціль проілюструвати загальний принцип, і результати, аналогічні до обчислених нижче, можуть бути отримані і при інших їх значеннях. Важливим моментом є залежність константи швидкості переходу, що сполучений з виконанням робочого ходу ($2 \rightarrow 3$). При зменшенні деформації $k_{23}(x)$ має різко зростати, залежність подібної форми зустрічається в багатьох інших моделях.

Параметри моделі

Параметр	Значення	Параметр	Значення
d_1	0 нм	$k_{23}(x)$	$\begin{cases} x > -0.1 & 10, \text{ c}^{-1} \\ x \leq -0.1 & 10^4, \text{ c}^{-1} \end{cases}$
d_2	8 нм	$k_{31}(x)$	$\begin{cases} x > -2.1 & 10^3, \text{ c}^{-1} \\ x \leq -2.1 & 10^4, \text{ c}^{-1} \end{cases}$
k_{cb}	2 пН/нм	$k_{13}(x)$	$0, \text{ c}^{-1}$
M	2	G_1^0	$0, \text{ k}_B \text{ T}$
N	1	G_2^0	$-4.3, \text{ k}_B \text{ T}$
$k_{12}(x)$	$1000 \exp(0.1 k_{cb} x^2 / k_B T), \text{ c}^{-1}$	G_3^0	$-18.7, \text{ k}_B \text{ T}$
		β_{an}	$10^{-6}, \text{ г/с}$

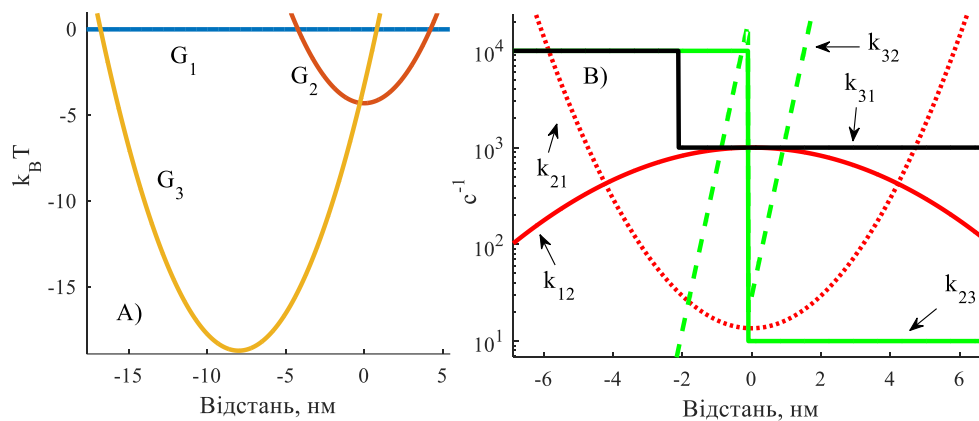


Рис. 6.5. Вільна енергія (А.) та константи швидкості (В.) як функція відстані x , що представляє відносну відстань між поперечним містком та зв'язувальними центром.

Деталі комп'ютерної реалізації моделі наведені в розділі 2.

6.4.2. Результати симуляції

Для з'ясування впливу структури скорочувального апарату на роботу сукупності поперечних містків була здійснена симуляція ізотонічного режиму при

різних параметрах моделі. Симуляція виконувалась як в рамках детерміністичної ЗДЕ моделі, так і в стохастичній просторово розподіленій моделі, що використовує Монте-Карло симуляцію. Для симуляції ізотонічного відгуку на східчасті зміни сили скорочувальна система спочатку активувалась в ізометричному режимі, після чого переводилась в ізотонічний режим. Значення зовнішнього навантаження в ізотонічному режимі були меншим за ізометричну силу.

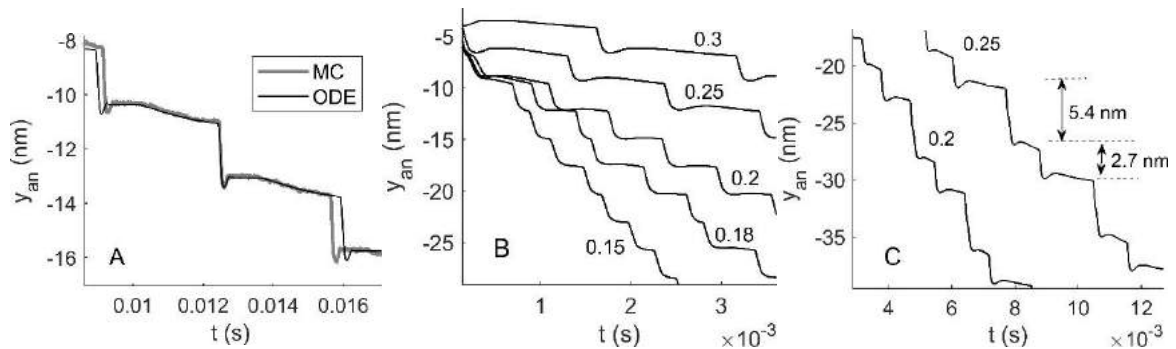


Рис. 6.6. Ізотонічні відгуки, отримані в стохастичній моделі з Монте-Карло симуляцією та її детерміністичній апроксимації, для параметрів ґратки $l_{mn}=43.2$ нм та $l_{an}=35.1$ нм. **А.** Порівняння Монте-Карло та детерміністичної симуляції (криві позначені як МК та ЗДР відповідно) при зовнішньому навантаженні $F_{ext}=0.4$ пН на поперечний місток. В Монте-Карло симуляції кількість паралельно з'єднаних пар тонкий-товстий філамент складала $1.5 \cdot 10^3$. $N=13$. **В-С.** Результати детерміністичної моделі при різних значеннях зовнішнього навантаження (значення зовнішньої сили F_{ext} в пН на поперечний місток показані біля кожної кривої). Результати були отримані при $N=13$ та $N=20$ для малюнків **В.** та **С.** відповідно.

Розглянемо спочатку простішу геометрію ґратки, прийнемо, що $l_{mn}=43.2$ нм та $l_{an}=35.1$ нм, кількість поперечних містків $N=13$. При таких параметрах ґратки, відповідно до (6.2) та (6.3), $T_{cb}=13$ та $s=2.7$ нм. Оскільки N співпадає з T_{cb} , значення Δ^k будуть рівномірно розподілені між усіма поперечними містками, та $\Delta^{k+1} - \Delta^k \equiv s$.

На рис. 6.6, показані траєкторії ковзання в ізотонічному режимі. Траєкторії ковзання носять східчастий характер (рис. 6.6А), повна висота (висота плато плюс висота стрибка) всіх сходинок дорівнює 2.7 нм. Як видно з рис. 6.6А, Монте-Карло симуляція скорочувальної системи, утвореної об'єднанням великої кількості однакових пар товстий-тонкий філамент, та її детерміністична апроксимація добре співпадають. При зменшенні зовнішнього навантаження F_{ext} швидкість скорочення

зростає завдяки зменшенню тривалості плато рис. 6.6В. При середніх швидкостях скорочення відбувається формування подвійних стрибків висотою $2 \cdot 2.7 = 5.4$ нм, плато між якими майже відсутнє (рис. 6.6 В $F_{ext} = 0.18$ пН на поперечний місток), в траєкторії подвійні сходинки чергуються з одинарними.

Якщо збільшити кількість поперечних містків до $N=20$, розподіл Δ^k між різними містками буде нерівномірним. В цьому випадку, при всіх навантаженнях, в траєкторіях детерміністичної моделі присутні сходинки висотою 2.7 та 5.4 нм (рис. 6.7С). Їх послідовність утворює певний патерн.

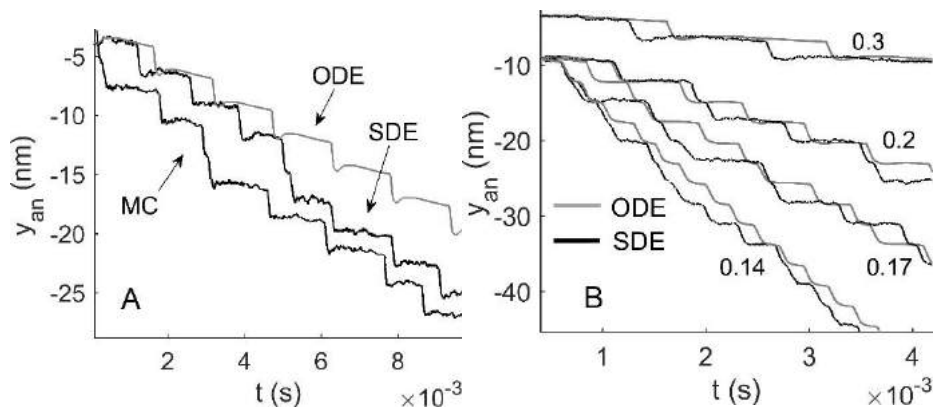


Рис. 6.7. Впливу шуму на динаміку ковзання. Показані ізотонічні відгуки, отримані в СДР моделі, Монте-Карло симуляції та її детерміністичній апроксимації, отримані для параметрів решітки: $l_{mn} = 43.2$ нм, $l_{an} = 35.1$ нм, $N=13$. **А.** Порівняння результатів СДР моделі та Монте-Карло симуляції (криві позначені як СДР та МК відповідно); для порівняння також наведений результат детерміністичної моделі (крива позначена як ЗДР). Результати отримані при $F_{ext} = 0.4$ пН. В Монте-Карло симуляції, кількість паралельно з'єднаних пар тонкий-товстий філамент складала 150, в СДР моделі $g=0.3$. Стрілками показані сходинки величиною 5.4 нм. **В.** Порівняння результатів СДР та детерміністичної моделей при різних значеннях зовнішнього навантаження (значення F_{ext} , в пН на поперечний місток, показані біля кожної кривої). В СДР моделі $g=0.3$.

Для з'ясування впливу шуму на динаміку ковзання, в детерміністичній моделі ЗДР (6.7) замінялись на СДР (6.12). Як видно з рис. 6.7 А, при однаковому рівні шуму, результати СДР моделі та Монте-Карло симуляції достатньо добре співпадають, не дивлячись на те, що структура шуму була різною в обох моделях. Наявність шуму призводить до виникнення злитих сходинок, висота яких є в ціле число разів більшою за елементарну, величиною 2.7 нм, рис. 6.7А-В. На відміну від детерміністичної моделі з такими ж параметрами ґратки, ці сходинки виникають при

різних навантаженнях, та їх виникнення носить стохастичний характер. При менших навантаженнях злиті сходинок виникають частіше, та більшої величини рис. 6.7В.

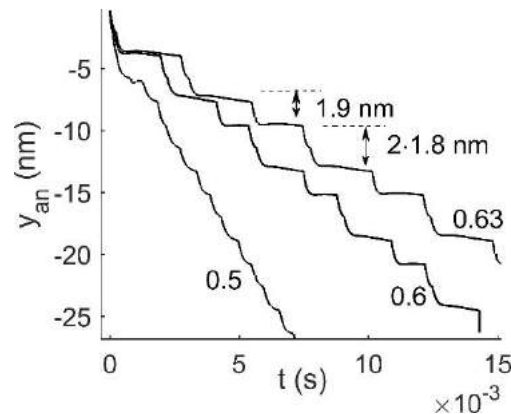


Рис. 6.8. Ізотонічні відгуки отримані в детерміністичній моделі з параметрами ґратки $l_{mn}=42.9$ нм, $l_{an}=37.3$ нм та $N=20$.

Якщо в якості періодів l_{mn} та l_{an} обрати експериментальні значення 42.9 нм та 37.3 нм відповідно, тоді $T_{cb}=373$ та $s=0.1$ нм. При $N < T_{cb}$ відстані $\Delta^{k+1} - \Delta^k$ можуть приймати різні значення при різних k , але всі вони будуть кратними 0.1 нм. Яким саме буде набір значень $\Delta^{k+1} - \Delta^k$, залежить від кількості поперечних містків N , а також взаємного зміщення товстого та тонкого філаментів. Так, при $N=20$ набір $\Delta^{k+1} - \Delta^k$, головним чином, буде складатись зі значень 1.8 нм та 1.9 нм.. Сходинок траєкторії будуть мати висоти, що дорівнюють цим значенням або їх сумі (рис. 6.8).

6.4.3. Механізм східчастого ковзання

Для аналізу механізму східчастого ковзання досліджувалась динаміка розподілів $C_i(t, x)$, рис. 6.9. При скороченні розподіли зміщуються вліво, рис. 6.9А-Е, одночасно відбуваються зміни їхньої форми.

Паузи між стрибками. Дрейф на плато між послідовними сходинок рис. 6.9А-С відбувається завдяки збільшенню слабо зв'язаних містків групи 1 (рис. 6.9А-С), в результаті хімічних переходів $1 \rightarrow 2$. На початку плато цей процес компенсується відривами сильнозв'язаних містків групи 3, тому актин залишається майже нерухомим (рис. 6.9А-В).

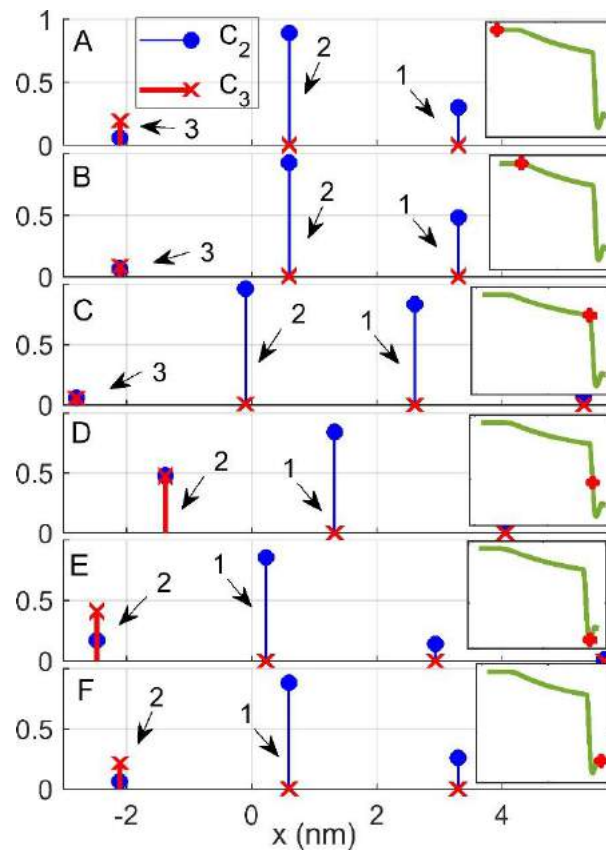


Рис. 6.9. Механізм східчастого ковзання. **А.-Ф.** Динаміка дискретних розподілів зв'язаних поперечних містків $C_i(t, x)$ при здійсненні скорочувальною системою сходинки в траєкторії її ковзання. Розподіли, що показані на графіках **А.-Ф.**, відповідають різним моментам часу. Вертикальні лінії з маркерами представляють величини $C_{i,r}^k(x_r^k, t)$ різних дискретних груп поперечних містків ($C_{i,r}^2$ та $C_{i,r}^3$ помічені як \bullet та \times відповідно). Лінія, що представляє значення $C_{i,r}^k$, розташована вдовж осі x в точці x_r^k . Відстані між будь-якими двома сусідніми стовпчиками розподілів C_i вздовж осі x дорівнюють 2.7 нм. Заселеності $C_{i,r}^k$ для деяких з дискретних груп містків позначені стрілками з номерами. На врізаннях показаний фрагмент траєкторії детерміністичної моделі з рис. 6.6А, маркером на траєкторії вказує поточне положення актину. Результати отримані в детерміністичній моделі при $l_{mn}=43.2$ нм, $l_{an}=35.1$ нм, $N=13$ та $F_{ext}=0.4$ пН на поперечний місток.

Стрибки. Стрибок в траєкторії, рис. 6.9С-Е, є результатом синхронного виконання робочого ходу (переходи $2 \rightarrow 3$) однією з дискретних груп слабозв'язаних містків. Дрейф на плато призводить до того, що відстань слабозв'язаних містків групи 2 до зв'язувального центру, з яким вони взаємодіють, в якийсь момент стає меншою за -0.1 нм (на рис. 6.9С на початку стрибка ця відстань дорівнює -0.1 нм). Це призводить до різкого зростання константи швидкості k_{23} ,

рис. 6.5В, слабозв'язані містки швидко переходять в сильнозв'язаний стан, рис. 6.9С-Е, група 2. Оскільки цей перехід супроводжується виконанням робочого ходу, відбувається різке зростання сили F_{cb} , швидкість скорочення різко зростає.

Величина елементарних сходинок. При великих зовнішніх навантаженнях в кінці стрибка траєкторія робить негативний викид рис. 6.9Е, після якого відбувається невеличке зворотне розтягування, рис. 6.9Е-Ф, і траєкторія виходить на плато. Зворотне розтягування виникає завдяки відривам $3 \rightarrow 1$ сильнозв'язаних містків групи 2. В кінці стрибка група цих містків перетинає границю $x = -2.1$ нм, рис. 6.9 Е, це значно збільшує константу швидкості k_{31} , рис. 6.5 В. Після виходу на нове плато розподіли набирають такої ж форми, яку вони мали на початку циклу (порівняйте рис. 6.9 Ф та рис. 6.9 А), процес повторюється.

Таким чином один цикл змін розподілів триває доти, доки кожна з груп містків не займає місце розташування сусідньої групи (що знаходиться на віддаліні $s = 2.7$ нм), яке та мала на початку циклу. Наприклад, група 2 в кінці циклу, рис. 6.9 Ф, займе місце групи 3, яке та мала на початку циклу, рис. 6.9 А. Тому сумарна амплітуда сходинки пов'язана з просторовою тривалістю циклу цих перетворень. Величина робочого ходу прямого впливу на висоту сходинки не має.

Формування подвійних сходинок в детерміністичній моделі. Якщо зовнішня сила не є великою, група містків, що формує стрибок, також може запустити процес синхронного виконання робочих ходів для сусідньої до неї групи, що призводить до утворення подвійних сходинок (рис. 6.6 В, $F_{ext} = 0.18$ пН на поперечний місток). Наприклад, якщо група 2, здійснюючи стрибок, протягне тонкий філамент так, що в кінці цього стрибка (рис. 6.9 Е) група 1 опиниться за межею 0.1 нм, це призведе до формування другого стрибка відразу за першим, минаючи фазу плато. Злиття обмежено двома сходинками, оскільки група 1 буде протягати актин на дещо меншу відстань, ніж група 2. Виконанню другого стрибка групою 1 не передує пауза, тож вона буде проводити менше часу в області $x > -0.1$ нм і буде мати менше слабозв'язаних містків на його початку. Якщо в моделі відстані $\Delta^{k+1} - \Delta^k$ є

достатньо малими, то таким саме чином може відбуватись злиття і більш ніж двох сходинок.

Формування злитих сходинок в СДР моделі. При наявності шуму механізм злиття сходинок є аналогічним до детерміністичної моделі, але перекидання чергової групи, що буде виконувати наступний стрибок, за границю $x = -0.1$ нм відбувається завдяки випадковому миттєвому збільшенню сили F_{cb} . Причому зі зменшенням зовнішнього навантаження відбувається зменшення відстані до границі $x = -0.1$, що має ця група на початку нової сходинки (на рис. 6.9 F це відстань між положенням групи 1 та $x = -0.1$ нм), тому ймовірність злиття буде збільшуватися зі зменшенням F_{ext}

Наведений аналіз показує, що східчаста динаміка, спостережувана в моделі, є результатом кооперативних ефектів, обумовлених структурними обмеженнями дискретної ґратки. При скороченні сходинки виникають завдяки синхронному виконанню робочого ходу однією з дискретних груп поперечних містків. Ще однією необхідною умовою синхронізації є нелінійність залежних від деформації констант швидкості, що сполучені зі значними змінами деформації поперечного містка (виконання робочого ходу) чи жорсткості півсаркомеру (відриви, зв'язування поперечних містків). У випадку розглянутої вище симуляції такою константою швидкості є $k_{23}(x)$. Вона характеризує швидкість переходу, сполученого з виконанням робочого ходу; при зменшенні x швидкість різко зростає після $x = -0.1$ нм, рис. 6.5 В.

Нами була розглянута симуляція ізотонічного скорочення, але східчасте ковзання також може бути отримане у випадку розтягування скорочувальної системи. В цьому випадку формування стрибка буде результатом синхронізації зворотних робочих ходів, сполучених з переходами $3 \rightarrow 2$. Ця синхронізація виникає завдяки нелінійному зростанню швидкості зворотного робочого ходу ($k_{32}(x > 0)$) при збільшенні x , рис. 6.5 В.

6.4.4. Порівняння з експериментом.

Результати симуляції ізотонічного скорочення показують, що просторова структура скорочувального апарату саркомеру, накладаючи просторові обмеження на взаємодію міозину з актином, може бути важливим чинником, який призводить до виникнення кооперативних ефектів в роботі сукупності поперечних містків. Зокрема, в моделі скорочувальної системи, побудованої з пари філаментів, завдяки дискретності ґратки філаментів виникають кооперативні ефекти в роботі поперечних містків, які призводять до виникнення східчастого ковзання тонкого філаменту. Чи можна вважати осциляції, що спостерігаються в моделі, аналогічними до експериментальних? Аналогічно до експерименту [4], модель дозволяє отримати сходинки, висота яких кратна висоті елементарної сходинки. Також модель демонструє аналогічну до експерименту залежність тривалості плато між стрибками та ймовірності виникнення великих сходинок порівняно з меншими від швидкості ковзання. Однак модель стикається зі складністю отримання експериментального значення величини елементарної сходинки 2.7 нм.

В моделі обмеження на розмір елементарних сходинок накладають величини $\Delta^{k+1} - \Delta^k$. Розмір сходинок дорівнює або є комбінацією $\Delta^{k+1} - \Delta^k$. В свою чергу набір $\Delta^{k+1} - \Delta^k$ залежить від геометрії ґратки філаментів (періоди l_{mn} та l_{an}), а також від кількості поперечних містків N . Крім того, якого саме розміру сходинки будуть утворюватися з наявних значень $\Delta^{k+1} - \Delta^k$, залежить від форми залежностей констант швидкостей переходів в механохімічному циклі.

Як ми бачили, значення $\Delta^{k+1} - \Delta^k$, що дорівнюють 2.7 нм і безпосередньо дають експериментальне значення елементарної сходинки, можуть бути отримані, коли періоди l_{mn} та l_{an} дещо відрізняються від експериментальних значень. Крім того, залежність величини елементарної сходинки від параметрів ґратки l_{mn} та l_{an} носить складний нелінійний характер, модель є чутливою до їх зміни. На основі цього можна зробити висновок, що є малоімовірним пояснити спостережувані в експерименті коливання довжини тільки на основі кооперативних ефектів в роботі

поперечних містків, що пов'язані з обмеженнями, які накладає на взаємодію актину з міозином дискретна ґратка філаментів.

Можливим рішенням цієї проблеми є розгляд альтернативних чи додаткових припущень, що стосуються структури скорочувальної системи, взаємодій міозину з актином. Так, можна припустити наявність більш складної геометрії, коли з одним актиновим філаментом здатні взаємодіяти декілька рядів поперечних містків одного товстого філаменту [137]. Або коли окремий поперечний місток здатен потенційно взаємодіяти не з одним актиновим мономером, а декількома сусідніми, розташованими в цільовій зоні [138, 139]. В останньому випадку це буде створювати відстані $\Delta^{k+1} - \Delta^k$, що дорівнюють або є в ціле число разів меншими за відстань між сусідніми мономерами (2.7нм). Ще одне припущення може стосуватись механізму генерації сили окремими поперечними містками. Експерименти з одиничними молекулами міозину показують, що переміщення актину міозиною головою може бути пов'язано не з поворотом плеча важеля, а з направленим дифузійним рухом зв'язаної голівки вздовж тонкого філаменту. Ці рухи мають східчастий характер з кроком 5.5 нм. Окрема міозинова голівка здатна переміщуватися швидкими дискретними кроками величиною ~ 5.5 нм. Гідролізуючи одну молекулу АТФ, вона може в середньому здійснити 2-5 кроків [140].

6.5. Апроксимація чисельних рішень моделі, побудованої в рамках формалізму Хакслі.

Як було зазначено, детерміністична модель (6.7)-(6.10) також може бути використана для апроксимації рішень моделі, заснованої на підході Хакслі (6.14)-(6.15). Для перевірки адекватності такої апроксимації ми здійснили симуляцію ізокінетичного скорочення в детерміністичній моделі (6.7) та в безперервній моделі (6.14). В детерміністичній моделі набір Δ^k формувався відповідно до (6.13), в результаті всі значення x_r^k були рівномірно розподілені на інтервалі інтегрування з кроком $\Delta x = l_{an} / K$.

Для чисельного рішення системи (6.14) ми дискретизували просторову координату x , розбивши діапазон її інтегрування на $K(m+n)$ підінтервалів

довжиною $\Delta x = l_{an} / K(m+n)$. Просторові похідні в правій частині (6.14), апроксимувались за допомогою центральних різниць. Отриману систему ЗДР ми вирішували в пакеті MATLAB, використовуючи ті самі вирішувачі, що і для системи (6.7). Аналогічно до симуляцій з попереднього розділу, механохімічний цикл поперечних містків складався з трьох станів з параметрами з таблиці 0. Ізокінетичному скороченню передувала активація системи в ізометричному режимі. Швидкість скорочення становила 1 мкм/с.

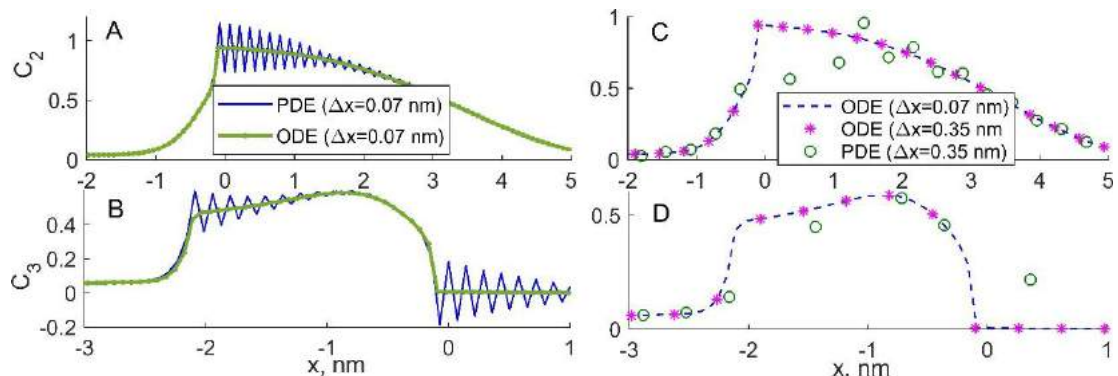


Рис. 6.10. Розподіли $C_i(x)$ зв'язаних поперечних містків в ізокінетичному режимі отримані в детерміністичній (криві позначені як ODE) та безперервній (криві позначені як PDE) моделях при різних значеннях Δx (K).

Результати симуляції представлені на рис. 6.10. Як можна бачити, чисельні рішення безперервної моделі (6.14) нестабільні, вони мають значні осциляції. Без урахування цих осциляцій, рішення детерміністичної та безперервної моделей гарно співпадають, рис. 6.10 А-В. Ці осциляції зменшуються зі збільшенням K , рис. 6.10А-В, рішення безперервної моделі наближаються до рішень детерміністичної моделі. На відміну від цього, рішення детерміністичні моделі залишаються стабільними і при малих K , рис. 6.10 С-Д. Причому, форма розподілів $C_i(x)$ рішень, отриманих при великих та малих K , у випадку детерміністичної моделі, залишається однаковою, рис. 6.10 С-Д.

6.6. Висновки до розділу

Була розроблена детерміністична апроксимація стохастичної просторово розподіленої моделі пари скорочувальних філаментів, що використовує Монте-Карло симуляцію. Апроксимація використовує ЗДР, що дозволяє уникнути екстенсивних обчислень, пов'язаних з необхідністю використання Монте-Карло

симуляції. Одночасно, аналогічно до просторово розподіленої моделі, детерміністична апроксимація зберігає просторові обмеження, що накладаються на взаємодію міозину з актином, завдяки їх взаємному розташуванню в рамках дискретної ґратки філаментів.

Симуляція ізотонічних відгуків на східчасті зміни сили в рамках просторово розподіленої моделі та її детерміністичної апроксимації показало, що апроксимація достатньо добре відтворює результати Монте-Карло симуляції. В детерміністичній моделі зберігаються кооперативні ефекти в роботі сукупності поперечних містків, що є наявними в просторово розподіленій моделі та пов'язані зі структурними обмеженнями дискретної ґратки. Ефекти шуму, що пов'язані зі стохастичністю кінетичних переходів в Монте-Карло симуляції, можуть бути відтворені в апроксимації, якщо замінити ЗДР на СДР.

Була показана можливість використання запропонованого підходу для апроксимації рішень моделей в ДРЧП, заснованих на формалізмі Хакслі. Симуляція ізокінетичного скорочення в детерміністичній та відповідній ДРЧП моделі показала, що їх чисельні рішення добре співпадають при достатньо малих значеннях кроку просторової дискретизації Δx . Стабільність чисельних рішень ДРЧП моделі, що були отримані методом характеристик, сильно залежить від величини Δx . Тоді як рішення, отримані в рамках детерміністичної моделі, залишались стабільними незалежно від Δx .

В рамках детерміністичної моделі було продовжене вивчення явища східчастого ковзання в ізометричному режимі та пов'язаних з ним кооперативних ефектів. 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. Також, якщо в моделі відстані $\Delta^{k+1} - \Delta^k$ є достатньо малими, може відбуватись злиття більш ніж двох елементарних сходінок в одну.

В формуванні сходінок з величиною, що в декілька разів є більшою за елементарну, важливу роль відіграє шум (в змінах довжини півсаркомеру). Група містків, що має здійснити механохімічні синхронні переходи, завдяки випадковим флуктуаціям довжини, може бути перекинута в область деформацій, де імовірність таких переходів різко збільшується. Однак таке злиття сходінок, коли наступна сходінка траєкторії з'являється без паузи відразу за першою, зменшує вірогідність злиття третьої сходінки з першими двома, оскільки група містків, що відповідає за її формування, буде знаходитись дещо далі від критичної деформації. Це пояснює форму розподілів сходінок, яка була отримана в стохастичній моделі.

В моделі була отримана величина елементарної сходінки, що співпадає з експериментальним значенням (2.7 нм), але таке значення було отримано: 1) коли періоди l_{mn} та l_{an} є близькими, але дещо відрізняються від експериментальних значень; 2) крім того, величина сходінки нелінійно залежить та є чутливою до змін l_{mn} та l_{an} . Було зроблено висновок про те, що, не дивлячись на те, що східчаста динаміка є якісно схожою з аналогічною динамікою, яка спостерігається в експерименті, спостережувана в експерименті динаміка не може бути пояснена тільки лише на основі кооперативних ефектів, обумовлених структурними обмеженнями дискретної ґратки. Використовуючи наявні припущення, модель стикається з принциповими труднощами при отриманні величини сходінки, що співпадає з експериментальним значенням. Можливим рішенням є розгляд більш складної структури скорочувальної системи, інших припущень стосовно механізму генерації сили окремим поперечним містком та щодо його взаємодії з актином.

Основні положення цього розділу опубліковані в наступних роботах [141, 142]

РОЗДІЛ 7. ПРИРОДА В'ЯЗКОПРУЖНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АКТИВНОГО М'ЯЗОВОГО ВОЛОКНА

Важливою характеристикою м'язового волокна є його в'язкопружні характеристики (див. розділ 1.4). Важливість цих характеристик, з одного боку, полягає в тому, що вони відображають ряд фізіологічних властивостей м'язу: явище затриманої активації/деактивації, здатність м'яза працювати осциляторно, продукуючи роботу лише на певній частоті коливань [91, 143, 144]. З другого боку, вивчення в'язкопружних властивостей дає важливу інформацію стосовно функціонування скорочувального апарату на молекулярному рівні в нативних умовах. Вважається, що параметри в'язкопружних характеристик є безпосередньо пов'язаними з механохімічними властивостями поперечних містків, вони дозволяють отримати інформацію про характер сполучення між хімічними реакціями та механічними процесами в ході роботи м'яза. Але цінність цього методу залежить від правильності інтерпретації його результатів. Вважається, що кінетика поперечних містків є чутливою до зовнішньої напруги, і спостережувана динаміка силового відгуку при змінах довжини м'язового волокна виникає як наслідок перерозподілу поперечних містків між різними біохімічними станами (між силогенеруючими та тими, що не продукують сили). Таким чином, кінетичні властивості перехідних процесів (позірні константи швидкості) відображають швидкості окремих стадій механохімічного циклу поперечних містків (фундаментальні або власні константи швидкості). Дискусії стосуються питань: з якими етапами механохімічного циклу пов'язаний кожен з процесів, та як саме зміни довжини саркомеру впливають на кінетику переходів в механохімічному циклі, породжуючи спостережувані на макроскопічному рівні зміни сили.

В циклі робіт Kawai та ін. (див. [7] та посилання в ній) на основі вивчення впливу концентрації лігандів $MgATP$, $MgADP$ та F_n на частотні характеристики м'язових волокон кролика трьом експоненційним процесам були співставлені певні переходи в механохімічному циклі поперечних містків. Швидкий процес (C) пов'язується з етапом зв'язування ATP , процес (B) пов'язується з процесом відриву F_n . Також припускається, що процес (A) може бути пов'язаний з етапом відриву

АДФ за умови наявності в саркомері послідовної еластичності. Також були обчислені внутрішні константи рівноваги та константи швидкостей цих етапів механохімічного циклу. При цьому інтерпретація спостережуваних закономірностей здійснювалась в рамках точкової кінетичної моделі. Така модель не дає конкретного механізму збурень кінетики та змін сили, що виникають при змінах довжини. В роботі [7] розглядається можливе значення такої просторової складової в механізмі формуванні перехідних процесів. Запропонована модель, що пояснює природу перехідних процесів наявністю певної залежності констант швидкості механохімічних переходів. Але модель носить якісний характер, залишає не експлікованою роль ряду принципів, що зазвичай використовують в багатьох просторово-розподілених моделях.

Базуючись на сказаному вище, в цьому розділі ми розв'язували такі задачі: 1) З використанням методів оптимізації побудувати просторово розподілену модель, в якій константи швидкостей кінетичного циклу залежали б від деформацій еластичного елемента поперечного містка та яка б дозволила відтворити експериментальні частотні характеристики активного м'язового волокна кролика. Модель повинна враховувати сучасні експериментальні дані, що стосуються механохімічного циклу поперечних містків, їх механічних властивостей, просторової структури півсаркомеру. В рамках такої моделі спробувати реалізувати схему відповідності експоненційних процесів окремим елементарним етапам циклу поперечних містків, що була запропонована в роботі (Kawai, Halvorson 2007). 2) Проаналізувати результати оптимізації, порівняти різні набори початкових параметрів та обмежень. В рамках отриманих моделей з'ясувати молекулярну природу експоненційних процесів: з'ясувати які зміни кінетики викликають збурення довжини, і яким чином вони породжують (на молекулярному рівні) спостережувані експоненційні процеси. З'ясувати роль просторової складової в молекулярному механізмі в'язкопружних властивостей.

7.1. Модель

Оскільки передбачалося, що параметри моделі будуть підбиратися автоматично, методами багатопараметричної оптимізації, є важливим, щоб модель була швидкодіюною. Моделі були побудовані в рамках підходу, запропонованого в розділі 6. Причому припускалось, що деформація є безперервною величиною (розділ 6.3).

Під час оптимізації варіювання параметрів обмежувалось так, щоб вони залишались в рамках існуючих експериментальних значень. Для того чи іншого параметру в літературі може існувати відразу декілька експериментальних значень; відповідно, було сформовано декілька різних наборів початкових значень параметрів, а також діапазонів їх варіювання. Також, виходячи з різних літературних джерел, можна вивести різні вихідні припущення для моделі. Відмінності таких різних наборів стосувалися наступного:

1. Механохімічний цикл

- Значення констант швидкостей
- Які механічні події пов'язані з хімічними перетвореннями в циклі (наявність / відсутність додаткового робочого ходу, слабо зв'язаного стану)
- Порядок сполучення хімічних і механічних подій в циклі
- Залежність констант швидкостей від деформації поперечного містка

2. Механічні параметри поперечного містка

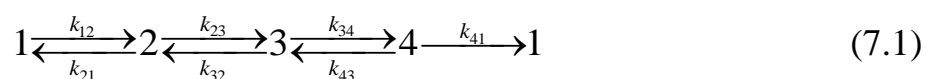
- Значення жорсткості еластичного елемента
- Лінійність / нелінійність жорсткості еластичного елемента
- Величина робочого ходу

3. Зіставлення результатів моделі з експериментальними результатами.

- В генерації сили поперечним містком бере участь дві його головки або одна
- Якою є частка зв'язаних поперечних містків в ізометричному режимі

В різних наборах, варіювання значень параметрів здійснювалося або у вузьких діапазонах, поблизу одного певного експериментального значення параметру, або в широкому діапазоні, що охоплював кілька різних значень даного параметру.

Механохімічний цикл. В загальному випадку механохімічний цикл поперечних містків включав 4 стани:



перший з яких був вільним, в інших – міозин зв'язаний з актином. Припускалось, що в загальному випадку константи швидкості $k_{ij}(\xi_i)$ є функціями деформації еластичного елемента поперечного містка ξ_i в стані i . Кожному з прямих переходів $i \rightarrow j$ зіставляли певну величину конформаційних змін міозинової голівки, що змінює деформацію еластичного елемента на величину d_i .

Ми використовували декілька математично різних наборів залежностей $k_{ij}(\xi_i)$ (додаток В.1). При виборі функціональних залежностей $k_{ij}(\xi_i)$ ми використовували наступні принципи: константа швидкості зв'язування максимальна, коли голівка поперечного містка розташована над зв'язувальним центром і швидко зменшується при відхиленнях голівки від такого положення; для констант швидкості етапів, сполучених з виконанням робочого ходу, імовірність прямого/зворотного переходу збільшується/зменшується зі зменшенням деформації; константи швидкості, сполучені з етапом відриву АДФ збільшуються зі зменшенням деформації [24, 145-148]. Значення констант швидкості $k_{ij}(\xi_i)$ та вільної енергії $G_i(\xi_i)$ при нульовій деформації обирались на основі ряду експериментальних робіт [7, 149-152], формувалось декілька альтернативних наборів таких значень (додаткові деталі наведені в додатку В.1).

Діапазони варіювання значень жорсткості еластичного елемента поперечного містка та величини його робочого ходу обирались на основі значень, що були отримані в роботах [20, 153-160] (див. також додаток В.1).

В рамках моделей здійснювалась симуляція східчастих та гармонійних змін довжини, результатом цієї симуляції, відповідно, були силовий відгук (1.6) та комплексний модуль (1.4) (додаток В.1). Комплексний модуль, отриманий в моделі припасовувався до частотних характеристики скінованих м'язових волокон з поперекового м'яза кролика, що були отримані експериментально [88] (20°C , $[MgATP]=5.1$ ммоль, $[P_i]=8$ ммоль), таблиця 1.1. Вирази для цільових функцій наведені в додатку В.1. Для співставлення результатів моделі з експериментальними результатами, отриманими для м'язового волокна, напруга останнього має бути

перерахована на поперечний місток. Оскільки до кінця не є зрозумілим, чи беруть у генерації сили поперечним містком обидві його голівки [116] чи тільки одна [115-118], ми здійснювали два варіанти перерахунків – на одну голівку чи на поперечний місток. Деталі перерахунку сили, чисельної реалізації моделі та використаних методів оптимізації наведені в розділі 2.2.

7.2. Результати оптимізації

В результаті оптимізації було отримано близько 50 наборів параметрів, які тією чи іншою мірою дозволяють відтворити експериментальні частотні та/або отримані з них перехідні характеристики, але у всіх випадках моделі демонструють наявність трьох експоненційних процесів. У багатьох з цих моделей в силовому відгуку були присутні гармоніки значної амплітуди. У деяких випадках наявність таких додаткових коливань пов'язувалась з дискретністю моделі, при зменшенні дискретності їх амплітуда наближається до нуля. Особливо часто поява таких коливань спостерігається на низьких частотах. На рис. 7.1 показані приклади такої нелінійності. В інших випадках наявність нелінійності не залежала від ступеня дискретності моделі, в цьому випадку зі зменшенням дискретності гармоніки не зникають. Такі нелінійності характерні для середніх частот. Приклади таких нелінійностей показані на рис. 7.2 а,b. Схожі нелінійності також спостерігаються за певних умов і в експерименті. Вони можуть виникати при великих амплітудах змін довжини [38], а також при високих рівнях активації кальцієм і низьких концентраціях фосфату [161] (див. рис. 7.2 с,d).

В експерименті нелінійності можуть спостерігатись і при малих амплітудах коливань довжини [83]. Силовий відгук відрізняється від гармонійної форми переважно завдяки присутності гармонік другого порядку [83]. Амплітуда цих гармонік залежить від частоти коливань і досягає максимуму на середніх частотах (приблизно в області частот, характерних для процесу (В)). Схожою з експериментом ситуацію ми спостерігали в деяких з оптимальних моделей. На рис. 7.3 показана частотна залежність нелінійності силового відгуку в цій моделі та експериментальні результати [83].

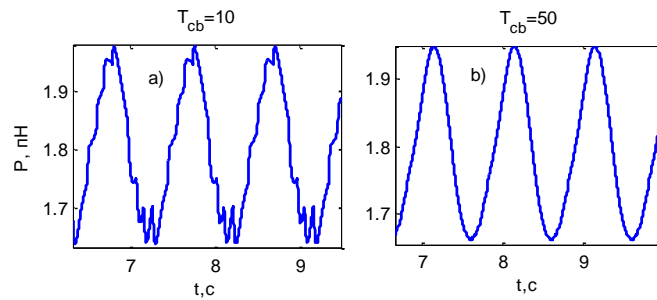


Рис. 7.1. а) Приклад нелінійностей у силовому відгуку однієї з оптимальних моделей (модель 2 з таблиці 7.1) на гармонійну зміну довжини амплітудою 1 нм та частотою 1Гц, обумовлених дискретністю моделі. б) при збільшені T_{cb} коливання зникають (модель стає безперечною при $T_{cb} \rightarrow \infty$)

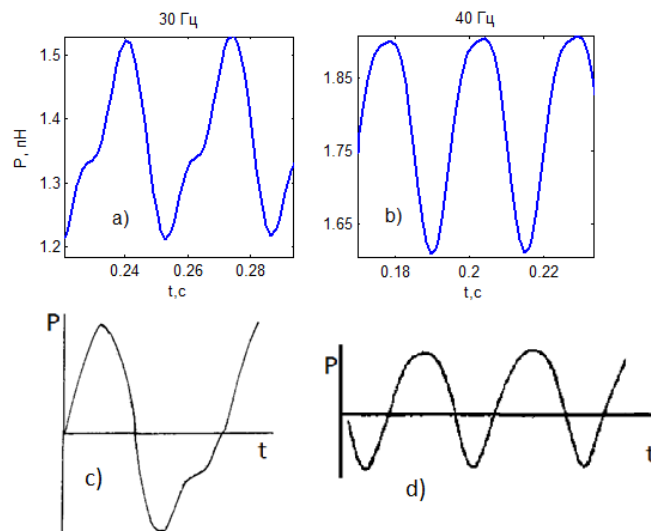


Рис. 7.2. Приклад нелінійностей у силовому відгуку моделі на гармонійну зміну довжини амплітудою 1 нм, не обумовлених дискретністю моделі. На рис. а) та б) показані результати симуляції двох різних моделей: а) - модель 20 з таблиці 7.1, частота змін довжини 30Гц; б) – модель, частота змін довжини 40Гц). с), d) - нелінійності силового відгуку, отримані в експерименті [161]. На рис. с) та d) частота змін довжини становила 9 Гц та 2 Гц відповідно.

Для подальшого аналізу були відібрані моделі, силовий відгук яких має мінімальні відхилення від гармонійної форми або нелінійності пов'язані з дискретністю моделі. Набори параметрів цих моделей представлено в таблиці 7.1. Далі по тексту будемо посилатися на різні моделі, наведені в таблиці 7.1, називаючи їх модель «М№», де № - порядковий номер, зазначений у стовпці №, таблиці 7.1.

Приклад порівняння АФЧХ, що була отримана в моделі М8 з експериментальними результатами, наведений на рис. 7.4.

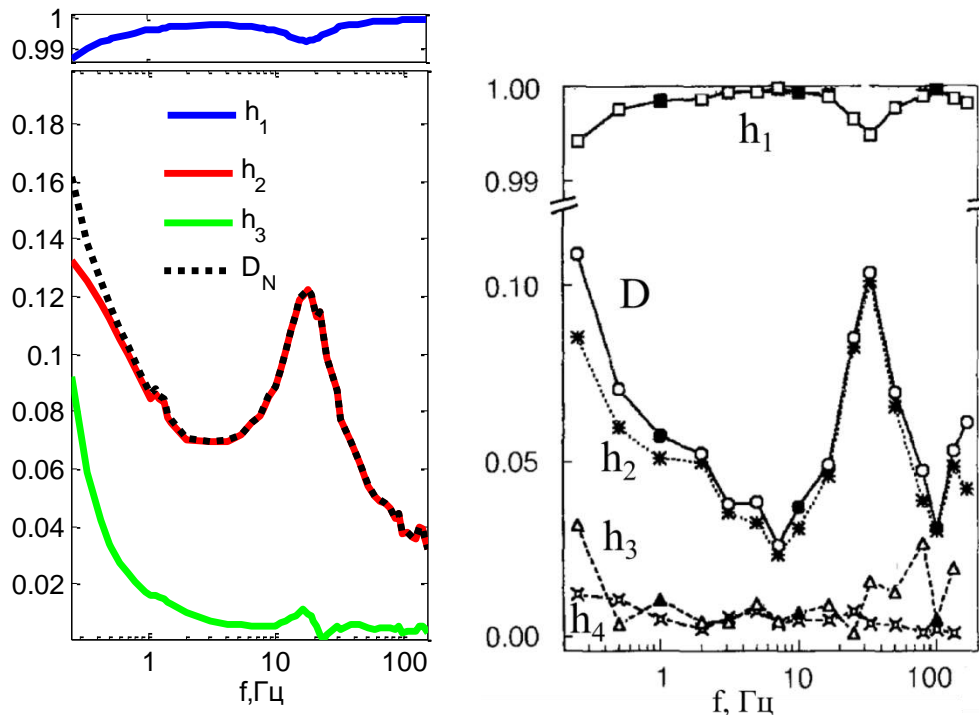


Рис. 7.3. Нелінійність силового відгуку на гармонійні зміни довжини в моделі М14 (лівий графік) та експерименті [83] (правий графік; скіновані м'язові волокна кролика). f – частота коливань довжини, $D(f)$ – коефіцієнт нелінійних спотворень, h_k – відносна амплітуда k -ої гармоніки. Величина $D(f)$ головним чином визначається амплітудою другої гармоніки.

ФЧХ більшості моделей мають якісну відмінність від експериментальної ФЧХ в області низьких частот (це видно на рис. 7.4 А). Ця розбіжність пов'язана з наявністю в експериментальному комплексному модулі (1.4) компоненти, яка відповідає пасивній паралельній еластичності з жорсткістю H . В моделі такий еластичний елемент відсутній, і вона відтворює лише частину комплексного модуля, пов'язану з процесами (А), (В) та (С).

Цільові функції враховували тільки різницю частотних та перехідних характеристик, причому, припасування здійснювалося на одній фіксованій амплітуді змін довжини. Це означає, що отримані моделі не обов'язково будуть відтворювати інші експериментально спостережувані властивості м'яза.

Таблиця 7.1

Параметри оптимальних моделей

Модель	k_{ij} набір	K_{cb}	d_1	G_2	G_3	G_4	$a_{12}^{(1)}$	$a_{12}^{(2)}$	$a_{23}^{(1)}$	$a_{34}^{(1)}$	$a_{41}^{(1)}$	$a_{41}^{(2)}$	$a_{41}^{(3)}$	$a_{41}^{(4)}$	$a_{41}^{(5)}$
№		пН/нМ	нМ	RT	RT	RT	с ⁻¹		с ⁻¹	с ⁻¹	с ⁻¹	нМ	нМ	нМ	нМ
8	1	1,14	7,0	-2,2	-14	-15	28	0,5	300	67	1500	0			
16	1	0,93	7,7	-2,6	-14	-15	31	0,5	300	59	1491	0			
20	1	2,70	6,0	-1,0	-14	-20	10	0,5	300	200	156	0			
41	1	1,10	4,8	-0,1	-3	-9	45	5,0	100	50	800	0			
44	1	0,49	6,3	-1,4	-3	-10	150	10,0	100	39	799	0			
46	1	0,44	7,0	-1,1	-3	-11	150	5,0	100	49	593	0			
7	1(r)	1,10	6,6	-2,2	-14	-18	37	0,5	150	60	800	0			
17	1(r)	0,77	7,3	-3,0	-14	-15	57	0,5	300	42	1500	0			
35	1(r)	1,08	6,9	-2,6	-15	-15	57	0,5	200	97	800	0			
36	1(r)	1,10	4,3	-0,1	-3	-9	82	5,0	100	50	523	0			
39	1(r)	1,10	4,2	-0,1	-3	-11	30	0,8	100	50	512	0			
45	1(r)	0,50	5,0	-0,1	-3	-11	150	10,0	100	7	402	0			
51	2	0,52	7,0	-3,5	-9	-17	340	5,0	600	17	500	0	0		
50	2r	0,30	10,0	-0,3	-4	-11	150	2,0	100	40	200	-5	0		
52	3	0,30	10,0	-2,0	-4	-7	150	7,0	100	30	10	30	300	-1,0	2,8
34	4	1,50	7,0	-1,2	-14	-17	10	0,5	300	100	1500	0			
21	4(r)	1,50	6,1	-1,9	-14	-20	45	0,5	300	178	114	0			

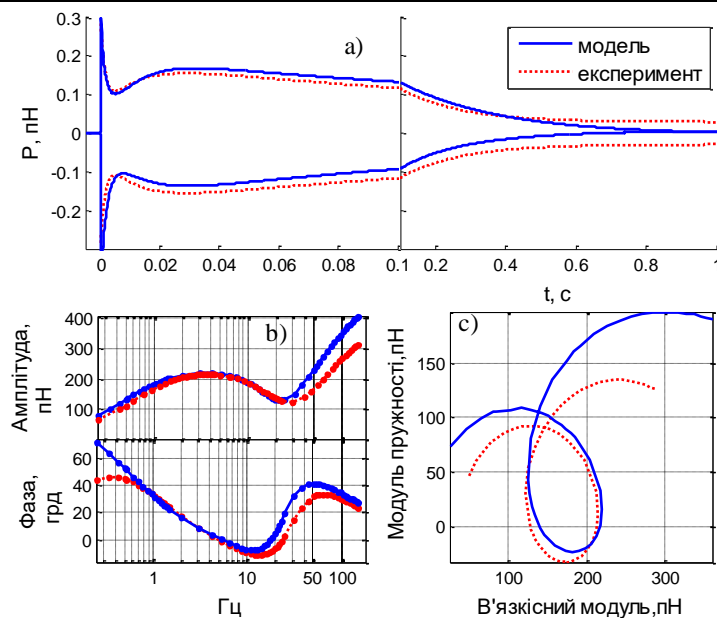


Рис. 7.4. Перехідні (а) та частотні (b,c) характеристики, отримані в моделі (набір параметрів М8) та в експерименті. Сила перерахована на поперечний місток

Виходячи з цього оптимальні моделі піддавались додатковій верифікації, де з експериментом порівнювались: ізометрична сила, частка зв'язаних містків, відхилення форми силового відгуку від гармонійної форми, див. додаток **B.2**

7.3. Молекулярний механізм перехідних і частотних характеристик

Використовуючи моделі із таблиці 7.1, ми симулювали експерименти зі східчастої, а також гармонійної зміни довжини півсаркомеру. Аналіз результатів симуляції мав дати відповіді на наступні питання: зі змінами заселеності яких хімічних станів поперечних містків пов'язані експоненційні процеси, та як їх динамічні характеристики (амплітуда, характерний час, фаза) пов'язані з параметрами просторово-часової динаміки цих змін.

7.3.1. Відповідність хімічних станів поперечних містків перехідним процесам

Силу $P(t)$, створювану півсаркомером, можна представити як суму компонент $P_i(t)$, кожна з яких створюється сукупністю поперечних містків у різних зв'язаних станах: $P(t) = \sum_{i>1} P_i(t)$, i – номер зв'язаного хімічного стану (див. схему (7.1)). Для того, аби дати відповідь на питання: зі змінами заселеності яких хімічних станів пов'язані кожен з експоненційних процесів, треба визначити, переважно якими компонентами формується та чи інша фаза силового відгуку на східчасті зміни довжини. Оскільки між перехідними та частотними характеристиками існує відповідність, відповідь на поставлене питання може бути так само знайдена у термінах частотних характеристик. В експерименті по гармонійній зміні довжини трьом експонентним процесам (точніше, їх характерним швидкостям) відповідають три характерні частоти. Набігання фази силового відгуку, що відбувається на цих трьох частотах, повинне бути обумовлене тими ж в'язкісними процесами, що й релаксація напруги в трьох фазах силового відгуку після східчастої зміни довжини. У цьому випадку нам потрібно визначити, якою з силових компонент визначається набігання фази. Другий спосіб аналізу є простішим, тому ми використовували саме його. В ході аналізу ми зіставляли фазу сумарного силового відгуку з фазами

окремих силових компонентів, а також порівнювали амплітуди силових компонентів між собою, виділяли домінуючу силову компоненту, а відповідно і хімічний стан, що головним чином обумовлює набігання фази на даній частоті.

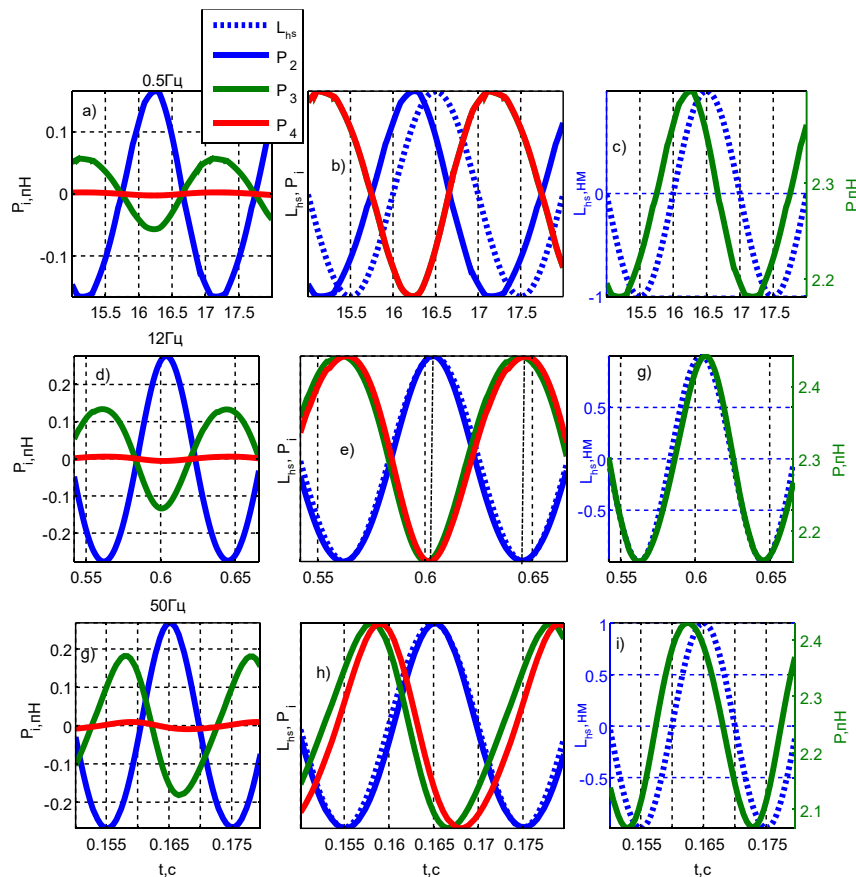


Рис. 7.5. Зіставлення фази силового відгуку $P(t)$ на гармонійну зміну довжини $L_{hs}(t)$ з фазами окремих силових компонент $P_i(t)$. Силові відгуки були отримані для трьох різних частот, близьких до характерних: а)–с) 0.5Гц, близька до характерної частоти a ; d)–f) 12 Гц, близька до b ; g)–і) 50 Гц, близька до c .

Як приклад наведем результати аналізу моделі М8. На рис. 7.5 представлені силові відгуки $P(t)$ на гармонійні зміни довжини, а також їх окремі компоненти $P_i(t)$. Відгуки були отримані на зміни довжини з частотами, що приблизно відповідають характерним швидкостям процесів (А), (В) та (С) для моделі М8; використовувались частоти 0.5, 12 та 50 Гц відповідно. З рис. 7.5 видно, що на частотах 0.5 та 55 Гц $P(t)$ випереджає по фазі $x(t)$ завдяки компонентам $P_2(t)$ та $P_3(t)$ відповідно. На частоті 0.5 Гц амплітуда компонент $P_3(t)$ та $P_4(t)$ менше амплітуди $P_2(t)$, й обидві компоненти відстають по фазі. На частоті 55 Гц $P_4(t)$ має

малу амплітуду, $P_2(t)$ майже синфазна. На частоті 12 Гц $P(t)$ відстає по фазі від $L_{hs}(t)$ завдяки компоненті $P_3(t)$.

Аналогічний аналіз був проведений і для інших моделей з таблиці 7.1, результати цього аналізу представлені в таблиці 7.2. У цій таблиці показані хімічні стани, з якими пов'язане набігання фази на кожній з характерних частот. Ці ж стани будуть відповідати за формування відповідних фаз при східчастій зміні довжини.

Таблиця 7.2

Хімічний стан, що визначає набігання фази на характерних частотах (а, b та с)

Модель №	набір k_{ij}	номер хімічного стану, з яким пов'язане набігання фази на характерній частоті (а, b або с)			Сценарій набігання фази №
		а	b	с	
M8	1	2	3	3	1
M16	1	2	3	3	1
M20	1	2	3,4	4	3
M41	1	2	3	3	2
M44	1	2	3	3	
M46	1	2	3	3(4)	1
M7	1(r)	2	3	3	1
M17	1(r)		3	3	1
M35	1(r)	(2)	3	3	1
M36	1(r)	(2)	3	3	1
M39	1(r)	2	3	3	1
M45	1(r)	(2)	3	3	
M51	2	(2)		3	
M50	2r	(2)	3	3	
M52	3	(2)	3	4	
M34	4	2	2	3	1
M21	4(r)	(2)	3	4	3

Хоча в різних моделях за набігання фази може відповідати одна й та сама компонента сили, але формувати відповідне набігання фази вона може різними способами. Розглянемо спрощений приклад: будемо вважати, що в напругу півсаркомеру основний внесок дають тільки дві силові компоненти (наприклад, P_2 та P_3), внеском третьої компоненти зневажимо ($P_4 \approx 0$). Також припустімо, що $P_2 > P_3$, та фаза P_2 дорівнює 0. При цих припущеннях фаза P буде визначатися фазою P_3 . Відмінна від нуля фаза ϕ відгуку P лежить у діапазоні $0 < |\phi| < \pi / 2$

(такий діапазон спостерігався у всіх моделях) і теоретично може формуватися двома способами, рис. 7.6. У першому варіанті фаза ϕ_3 компоненти P_3 лежить у діапазоні $0 < |\phi_3| \leq \pi/2$, рис. 7.6 b, d. У другому випадку вона лежить у діапазоні $\pi/2 < |\phi_3| < \pi$, рис. 7.6 a, c. При тих же амплітудах компонентів P_2 та P_3 , перший сценарій дасть більше значення амплітуди загальної сили півсаркомеру.

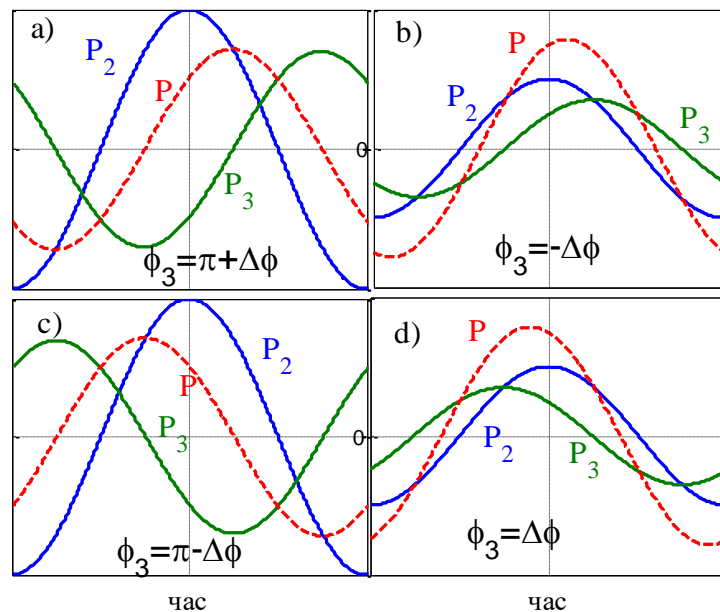


Рис. 7.6. Ілюстрація спрощеного сценарію формування фази напруги півсаркомеру P з фаз силових компонент P_2 та P_3 . На рис а та б показане формування позитивної фази напруги півсаркомеру, а на рис. с та d – негативної. У всіх випадках фаза P_2 дорівнює нулю, а фаза P визначається тільки не нульовою фазою P_3 .

Розглянуті вище два можливі способи набігання фази реалізуються в різних комбінаціях в моделях з таблиці 7.2. Для цих моделей можна виділити кілька основних сценаріїв формування набігання фази P . Схематично ці сценарії представлені на рис. 7.7-7.9.

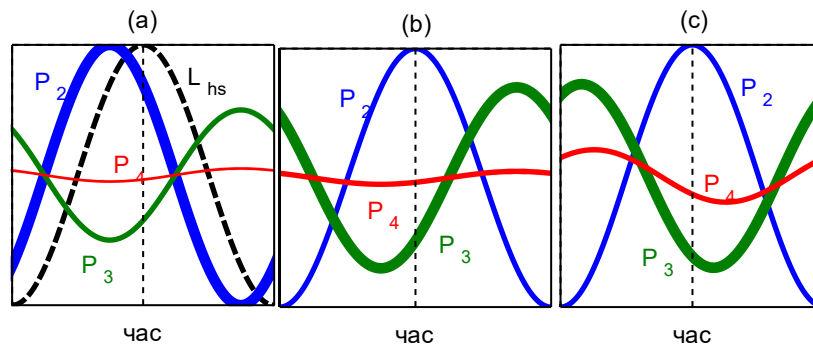


Рис. 7.7. Сценарій 1 співвідношення фаз сигналів зміни довжини півсаркомеру L_{hs} , та компонент сили P_2 , P_3 та P_4 . Для компонент сили також показане співвідношення їх амплітуд. Співвідношення фаз та амплітуд показані для трьох характерних частот a , b та c . Компонента що є відповідальною за формування загальної фази, для кожної із частот, показана жирною лінією.

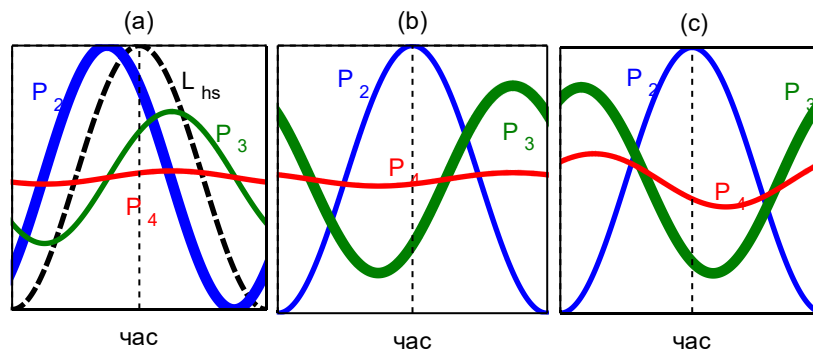


Рис. 7.8. Сценарій 2, див. підпис до рис. 7.7

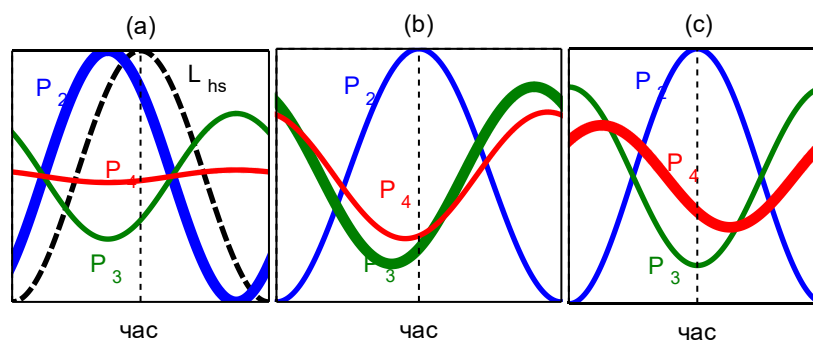


Рис. 7.9. Сценарій 3, див. підпис до рис. 7.7

На характерних частотах a та c фаза сили півсаркомеру позитивна, на частоті b негативна. При **сценарії 1** з рис. 7.7 видно, що на характерній частоті a така фаза сили формується фазою компоненти P_2 ($0 < \phi_2 < \pi/2$), фаза P_3 буде зміщувати загальну фазу в протилежному напрямку, однак її амплітуда мала. На частоті b загальна фаза формується за рахунок фази P_3 ($-\pi < \phi_3 < -\pi/2$), на частоті c - за

рахунок P_3 ($\pi/2 < \phi_3 < \pi$). **Сценарій 2** відрізняється від сценарію 1 тільки тим, що на частоті a фаза P_3 зміщена на $\pi/2$ порівняно зі сценарієм 1. **Сценарій 3** не відрізняється від сценарію 1 за винятком того, що на частотах b та c у загальну силу та її фази значний внесок так само дає компонента P_4 . На частоті b домінуючий внесок залишається за P_3 , на частоті c основний внесок дає P_4 . Те, що набігання фази напруги на різних частотах визначається різними компонентами сили – результат того, що зі зміною частоти відбувається зміна їх фаз та амплітуд.

Дані про те, який із цих трьох сценаріїв спостерігається в кожній з моделей, представлено в таблиці 7.2. В узагальненому вигляді ці результати представлені в таблиці 7.3. У ній наведено, які хімічні стани формують набігання фази на трьох характерних частотах, зазначено фази відповідних силових компонент та загальної сили.

Таблиця 7.3

Хімічні стани в механохімічному циклі поперечних містків, що визначають набігання фаз на характерних частотах a , b та c ; фази силових компонент, що відповідають цим станам.

Характерна частота	Фаза сили півсаркомеру	Хімічний стан поперечного містка	Фаза силової компоненти
A	$0 < \phi < \pi/2$	2	$0 < \phi_2 < \pi/2$
B	$\pi/2 < \phi < \pi$	3	$\pi/2 < \phi_3 < \pi$
C	$0 < \phi < \pi/2$	3	$-\pi < \phi_3 < -\pi/2$
		4	$-\pi < \phi_4 < -\pi/2$

7.3.2. Зв'язок між динамікою розподілів поперечних містків та силою півсаркомеру при східчастих та гармонійних змінах довжини

Аналізуючи фази та амплітуди компонент силових відгуків на гармонійні зміни довжини, ми зіставили експоненційним процесам (A), (B) та (C) зміни заселеності певних хімічних станів. Для того аби з'ясувати природу динамічних параметрів експоненційних процесів, далі ми проаналізуємо деталі цих змін на рівні

просторово-часової динаміки розподілів заселеності поперечних містків. В даному випадку такий аналіз легше здійснювати для східчастих змін довжини.

Розглянемо результати такого аналізу на прикладі моделі М8. У цій моделі процеси (С), (В) та (А) є результатом змін розподілів C_3 , C_3 та C_2 відповідно (таблиця 7.2). На рис. 7.10 та рис. 7.11 представлена динаміка цих розподілів, а також динаміка розподілів хімічних потоків $J_{km}(t, x)$ при східчастому розтягуванні та скороченні відповідно. На цих рисунках показана форма розподілів в різні моменти трьох фаз силового відгуку, а також форма стаціонарних ізометричних розподілів.

Загальна картина динаміки розподілів на рис. 7.10 та .7.11 виглядає наступним чином. Перед східчастою зміною довжини півсаркомер скорочується ізометрично, і всі розподіли поперечних містків $C_i(t, x)$ набувають стаціонарної форми. Миттєва зміна довжини призводить до миттєвого адвективного зміщення всіх розподілів в просторі деформацій поперечних містків. При цьому розподіли зміщуються як ціле (фаза I силового відгуку). Після фіксації нової довжини півсаркомеру ці перехідні розподіли під дією нестаціонарних хімічних потоків будуть відновлювати свою форму до ізометричної. Це відновлення супроводжується спостережуваними змінами сили півсаркомеру (рис. 7.10 та .7.11, крива $P(t)$). Амплітуда змін довжини є малою, тому при адвективних зміщеннях розподілів відбуваються тільки зміни та послідує відновлення їх крайових ділянок (схематично це також показано на рис. 7.12). Відповідно, динаміка релаксації сили до ізометричного рівня пов'язана тільки з динамікою зміни країв розподілів заселеності.

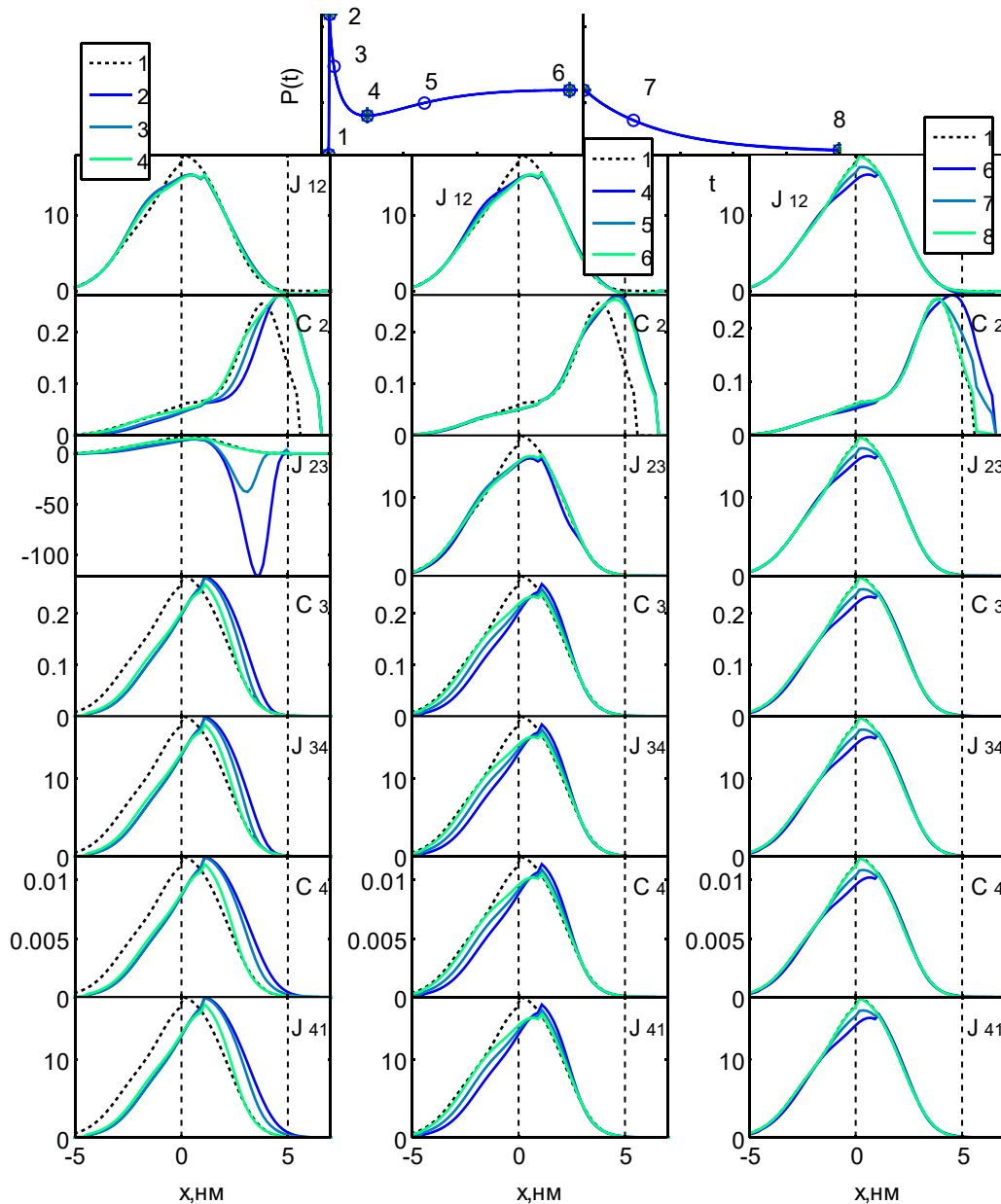


Рис. 7.10. Миттєві розподіли $C_i(t, x)$ зв'язаних поперечних містків, а також хімічних потоків $J_{km}(t, x)$ на різних етапах силового відгуку на східчасте розтягування півсаркомеру у моделі М8. Силовий відгук $P(t)$ показаний на верхньому малюнку, маркерами на кривій показані значення напруги в різні моменти часу. Маркер 1 відповідає ізометричному режиму, маркери 2, 4 та 6 відповідають початку фаз II, III та IV відповідно. На графіках нижче показані розподіли $C_i(t, x)$ та $J_{km}(t, x)$ у моменти часу, які відповідають значенням напруги що позначені маркерами (номер кривої, показаний у легенді, відповідає номеру маркера) Одиниці вимірювання потоків с^{-1} .

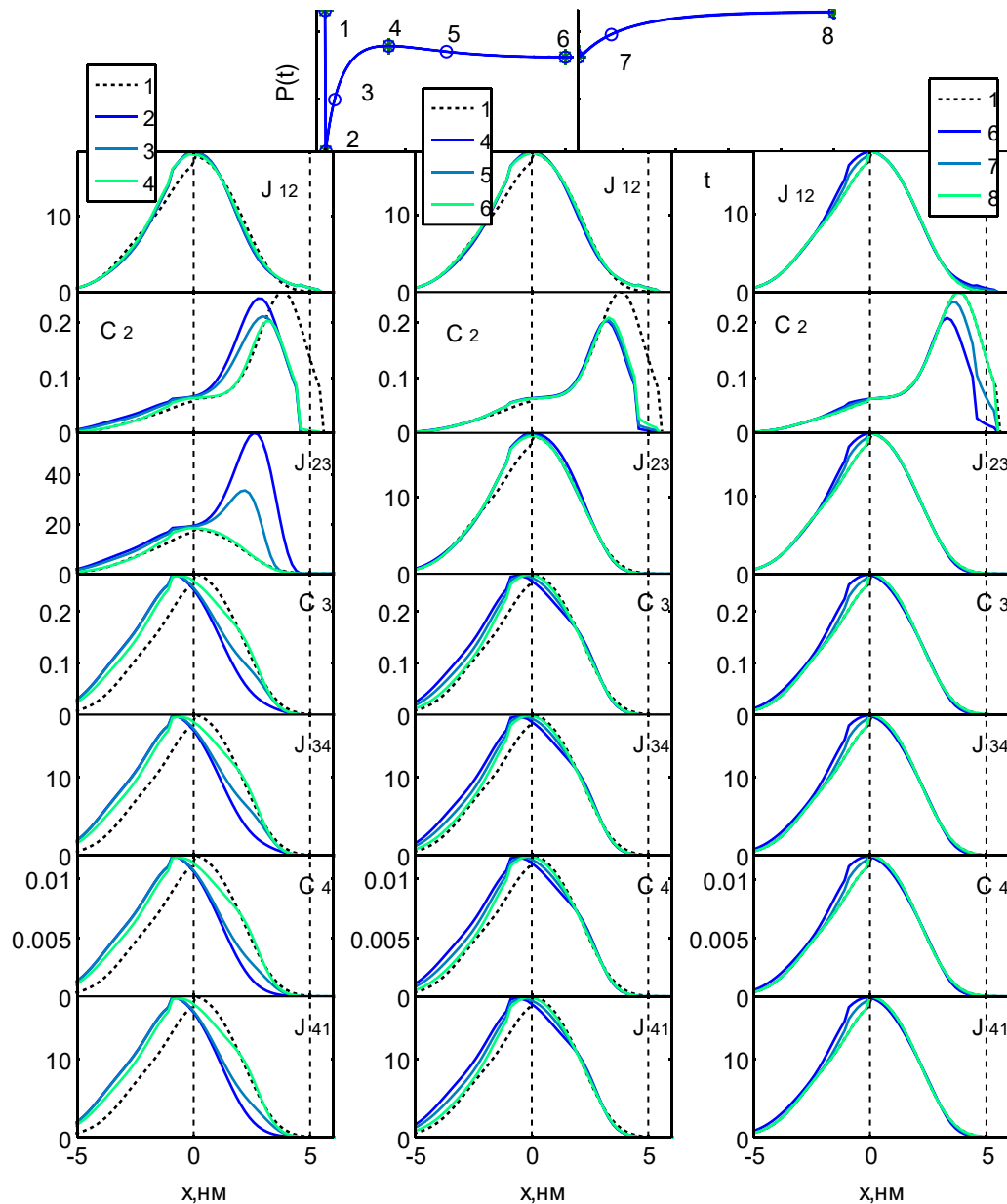


Рис. 7.11. Миттєві розподіли $C_i(t, x)$ зв'язаних поперечних містків, а також хімічних потоків $J_{km}(t, x)$ на різних етапах силового відгуку на східчасте розтягування півсаркомеру у моделі M8. Інші деталі - дивіться підпис до рис. 7.10.

Також з рис. 7.10 та рис. 7.11 можна бачити, що відновлення розподілів є просторово неоднорідним, різні краї розподілів відновлюються з різною швидкістю. Така неоднорідність є результатом залежності констант швидкостей хімічних переходів від деформації поперечного містка (рис. 7.13). З кожною з фаз силового відгуку пов'язано відновлення декількох країв декількох розподілів, але деякі з них мають домінуючий вклад в формування відповідної фази. Це визначається деформацією та кількістю містків, що належать краю. З рис. 7.10 та рис. 7.11 можна

бачити, що з фазами II, III та IV силового відгуку корелюють відновлення правого краю C_3 ($x \approx [0.5 \ 3.5]$ нм), лівого краю C_3 ($x \approx [-4.3 \ -0.5]$ нм) та правого краю C_2 ($x \approx [3.5 \ 6.5]$ нм) відповідно.

Фазам II, III та IV силового відгуку відповідають три експоненційні процеси. Статичні та динамічні параметри експоненційних процесів визначаються просторовими та динамічними параметрами збурених крайових ділянок. Характерний час перехідного процесу буде визначається ефективною швидкістю відновлення відповідних країв, яка, в свою чергу, залежить від швидкості переходів у механохімічному циклі містків, які пов'язані з цими крайовими ділянками. Початкова амплітуда процесу буде залежати від величини стаціонарної заселеності крайових ділянок, середньої деформації поперечних містків. Напрямок експоненційного процесу визначається тим, чи є край лівим або правим, а також тим, в області позитивних чи негативних деформацій він знаходиться. З рис. 7.10 та рис. 7.11 можна бачити, що завдяки геометричним обмеженням відновлення правих та лівих країв розподілів має протилежний характер. Одразу після розтягування заселеність в області лівих країв зменшується, і в ході відновлення вона збільшується. Якщо край буде знаходитись в області позитивних деформацій, це буде давати позитивний вклад в зміни сили. При скороченні заселеність і сила в ході відновлення такого краю будуть зменшуватись. Для правого краю, що знаходиться в області позитивних деформацій, при скороченні/розтягуванні все відбувається навпаки. 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 (A) та (C) можуть бути наслідком відновлення правих країв розподілів, які мають відповідну характерну швидкість відновлення; процес (B) – лівого краю розподілу поперечних містків в сильнозв'язаному стані.

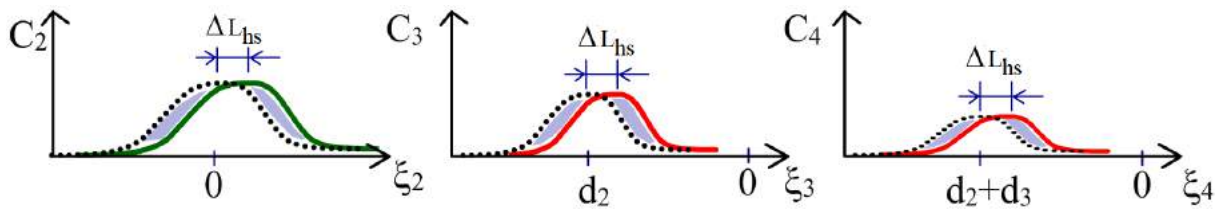


Рис. 7.12. При малих змінах довжини ΔL_{hs} півсаркомеру змінюються тільки краї розподілів заселеності. Пунктиром показані ізометричні розподіли, безперервними лініями - ті ж розподіли після східчастої зміни довжини (в даному прикладі - розтягування). З плином часу перехідні розподіли, показані безперервними лініями, будуть повертатись до ізометричної форми.

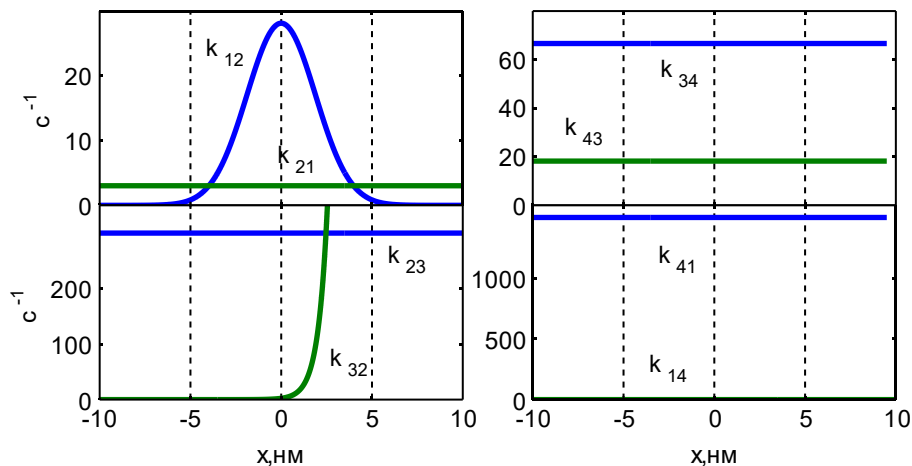


Рис. 7.13. Константи швидкості $k_{ij}(x)$ для моделі М8

Для моделі М8 краї розподілів містків в сильнозв'язаних силогенеруючих станах, а також правий край розподілу містків в слабозв'язаному стані знаходяться в областях з позитивною деформацією (рис. 7.10, .7.11). Напрямок процесів (А) та (С) пов'язаний з характером відновлення правих країв розподілів C_2 та C_3 відповідно. Напрямок процесу (В) пов'язаний з лівим краєм C_3 .

Аналізуючи хімічні потоки, можна визначити, переважно завдяки яким саме хімічним переходам відбувається відновлення того чи іншого краю. У таблиці 7.4 наведені середні значення хімічних потоків, заселеностей, а також констант швидкостей на ділянках x , що відповідають трьом краям, які формують перехідні процеси. Виходячи з рис. 7.10, рис. 7.11 та таблиці 7.4, картину відновлення форми країв розподілів та формування відповідних експоненційних процесів, після східчастих змін довжини, можна представити наступним чином:

Таблиця 7.4

Значення хімічних потоків \bar{j}_{mn} (в с^{-1}), повних хімічних потоків \bar{J}_{mn} (в с^{-1}), констант швидкостей \bar{k}_{mn} (в с^{-1}), а також заселеностей \bar{C}_m , усереднені на різних інтервалах x на початку фаз II, III та IV силового відгуку на східчасту зміну довжини. Для середніх значень також вказані їх стандартні відхилення.

Розтягування							Скорочення					
Фаза II, $x=[1.5 \ 3.5]$ нм							Фаза II, $x=[0.5 \ 3]$ нм					
m/n	\bar{j}_{mn}	\bar{j}_{nm}	\bar{J}_{mn}	\bar{k}_{mn}	\bar{k}_{nm}	\bar{C}_m	\bar{j}_{mn}	\bar{j}_{nm}	\bar{J}_{mn}	\bar{k}_{mn}	\bar{k}_{nm}	\bar{C}_m
1/2	7,7±3,1	0,3±0,1	7,4±3,2	11,6±4,8	3,0±0,0	0,7±0,0	11,4±4,8	0,5±0,2	10,9±4,9	18,1±6,3	3,0±	0,6±0,1
2/3	30,1±10,5	79,7±55,0	- 49,6±44,7	300±0,0	642,4±686,5	0,1±0,0	48,8±18,8	8,2±5,8	40,7±13,3	300,0±	179,0±229,8	0,2±0,1
3/4	12,0±4,1	0,2±0,0	11,9±4,0	66,6±0,0	18,2±0,0	0,2±0,1	6,8±4,0	0,1±0,1	6,7±3,9	66,6±	18,2±	0,1±0,1
4/1	12,7±3,4	0,0±0,0	12,7±3,4	>1e3	0,0±0,0	0,0±0,0	6,3±4,1	0,0±0,0	6,3±4,1	>1e3	0,0±	0,0±
Фаза III, $x=[-3 \ -0.5]$ нм							Фаза III, $x=[-4.3 \ -1.3]$ нм					
1/2	10,5±2,8	0,1±0,0	10,4±2,7	18,1±6,3	3,0	0,6±0,1	5,9±3,4	0,1±	5,8±3,4	10,1±6,1	3,0±	0,6±
2/3	9,6±2,8	0,0±0,0	9,6±2,8	300±0,0	0,2±0,2	0,0±	6,1±3,4	0,0±	6,1±3,4	300,0±	0,0±	0,0±
3/4	6,9±2,8	0,1±0,0	6,8±2,7	66,6	18,2	0,1±0,0	8,7±3,5	0,1±	8,6±3,5	66,6±	18,2±	0,1±0,1
4/1	6,7±2,7	0,0±0,0	6,7±2,7	>1e3	0,0	0,0±0,0	8,7±3,5	0,0±	8,7±3,5	>1e3	0,0±	0,0±
Фаза IV, $x=[4.5 \ 6.5]$ нм							Фаза IV, $x=[3.5 \ 5.5]$ нм					
1/2	0,2±0,3	0,6±0,2	-0,3±0,1	0,6±0,5	3,0±	0,3±0,3	1,2±0,7	0,2±0,2	0,9±0,5	1,9±1,2	3,0±	0,6±
2/3	55,1±20,7	55,0±20,6	0,1±0,1	300±	>1e4	0,2±0,1	24,8±21,9	24,5±21,5	0,3±0,4	300,0±	>1e4	0,1±0,1
3/4	0,1±0,1	0,0±0,0	0,1±0,1	66,6±	18,2±	0,0±0,0	0,3±0,4	0,0±	0,3±0,4	66,6±	18,2±	0,0±
4/1	0,1±0,1	0,0±0,0	0,1±0,1	>1e3	0,0±	0,0±0,0	0,3±0,4	0,0±	0,3±0,4	>1e3	0,0±	0,0±

Процес (С), фаза II. При розтягуванні/скороченні відновлення заселеності правого краю C_3 відбувається завдяки обміну містками з лівим краєм слабозв'язаного стану C_2 (переходи $3 \rightarrow 2 / 2 \rightarrow 3$). При розтягуванні заселеність C_3 зменшується, а C_2 збільшується; при скороченні - навпаки. При розтягуванні відбувається збільшення (у порівнянні з ізометричним значенням) найшвидшого потоку j_{32} ; і саме він, головним чином, відновлює правий край C_3 ($J_{23} > 0$). При скороченні цей потік слабшає, основний канал відновлення - це потік j_{23} ($J_{23} < 0$). Зміни заселеності лівого краю C_2 значного впливу на зміни сили не чинять, оскільки цей край розташований поблизу нульової деформації.

Процес (В), фаза III. Фаза III є результатом відновлення лівого краю розподілу C_3 . При розтягуванні/скороченні заселеність цього краю збільшується/зменшується завдяки переходам $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3/3 \rightarrow 4 \rightarrow 1$.

Процес (А), фаза IV. В області значень x , що відповідають правому краю C_2 , заселеність розподілів C_3 та C_4 мала, тому потоки обміну містками із цими розподілами так само малі. Відновлюючись, C_2 головним чином обмінюється містками з C_1 . При розтягуванні баланс переходів зміщується на користь потоку j_{21} ($J_{12} < 0$). При скороченні j_{21} зменшується в порівнянні з ізометричним рівнем; правий край C_2 відновлюється завдяки потоку j_{12} ($J_{12} > 0$).

Описані закономірності схематично представлені на рис. 7.14. На схемі показані локальні зміни розподілів у різних фазах, середні значення потоків та констант швидкостей з таблиці 7.4; виділені етапи механохімічного циклу, а також краї розподілів, що відповідають за формування експоненційних процесів.

Аналіз, аналогічний до аналізу результатів моделі M8, також було здійснено для моделей M8, M16, M34, M41, M20, M21 (таблиця 7.1). На основі цього аналізу можна виділити кілька загальних сценаріїв молекулярного механізму перехідних характеристик. Перший сценарій реалізується в моделях M8, M16, M34, M41. У всіх цих моделях, завдяки більшим значенням k_{41} , розподіл C_4 є слабо заселеним, містки в цьому стані дають незначний внесок у силу та її динаміку. Можна виділити наступні загальні особливості формування експоненційних процесів відповідно до цього сценарію:

Фаза II (процес (С)). В першому сценарії ця фаза реалізується завдяки відновленню правого краю C_3 , через обмін містками з лівим краєм C_2 . Завдяки формі залежності $k_{32}(x)$ (зі збільшенням x $k_{32}(x)$ збільшується) розташування цих країв збігається в просторі x . І оскільки ці краї є різними по типу (правий та лівий), при змінах довжини зміни заселеності цих країв будуть носити антагоністичний характер. При розтягуванні заселеність лівого краю C_2 швидко поповнюється за рахунок заселеності правого краю C_3 ; при скороченні навпаки.

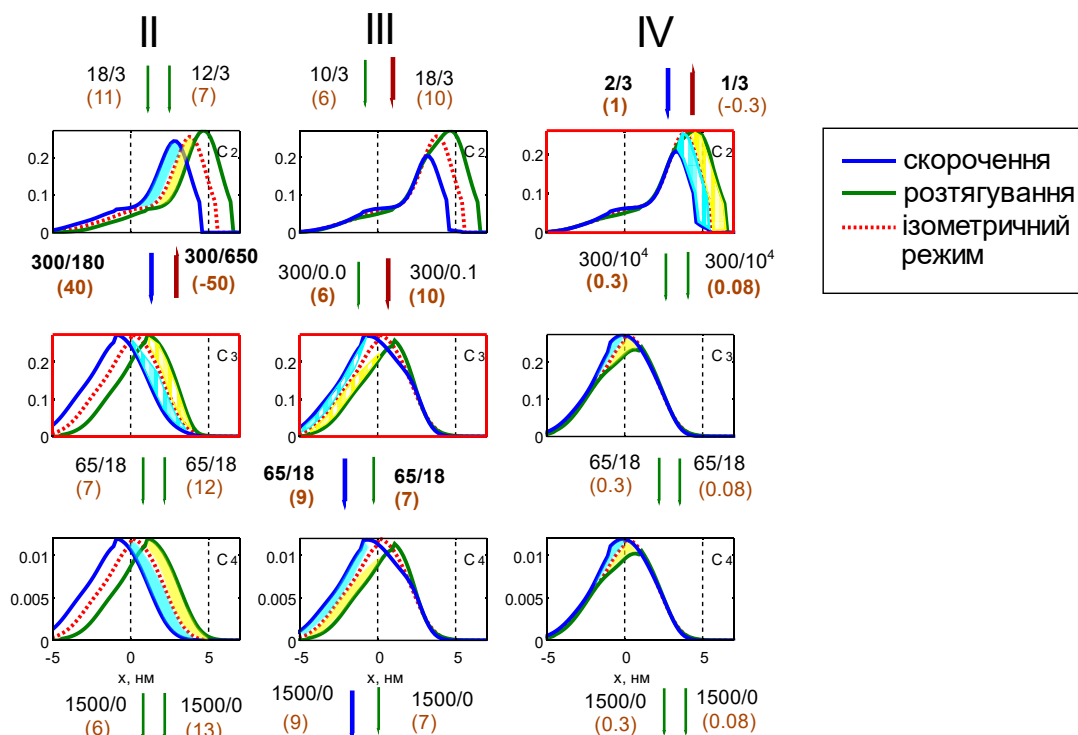


Рис. 7.14. Схема відновлення ізометричних розподілів $C_i(t, x)$ після східчастої зміни довжини у моделі M8. Процес відновлення показаний для фаз II, III і IV силового відгуку після східчастого розтягання та скорочення. Суцільними лініями показані розподіли на початку відповідної фази (зеленим кольором показані розподіли після східчастого розтягання, синім – після скорочення), пунктирною лінією показані ізометричні розподіли. Залиті області між ізометричним та нестационарним розподілом показують, як зміниться дана частина нестационарного розподілу в ході відповідної фази. Жирним шрифтом показані константи швидкості, що найбільшою мірою визначають характерну швидкість для даної фази. Фази зазначені римськими цифрами у верхній частині малюнку. Між розподілами стрілками показані напрямки повних хімічних потоків (стрілка над розподілом C_2 відповідає потоку J_{12} , стрілка під C_4 - потоку J_{41}). Поруч зі стрілками зазначені середні значення констант швидкостей прямих k_{ij} та зворотних k_{ji} реакцій (значення показані через слеш k_{ij}/k_{ji} в с^{-1}), а також початкові значення повних потоків $J_{ij}(t, x)$ (значення показані в дужках, в с^{-1}). Усереднення здійснювалося на інтервал x найбільших змін розподілів заселеностей у даній фазі (залиті зони між розподілами).

Завдяки робочому ходу, що сполучений з переходом $2 \rightarrow 3$, зміни заселеності C_3 будуть давати значно більший внесок у динаміку загальної сили у порівнянні з C_2 .

Фаза III (процес (В)). Ця фаза реалізується завдяки відновленню лівого краю C_3 , за рахунок обміну містками з розподілом C_1 з відповідною швидкістю. Обмін містками відбувається двома шляхами. При розтягуванні збільшення заселеності лівого краю C_3 відбувається через переходи $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3$, причому швидкість лімітується переходами $1 \rightarrow 2$. При скороченні містки відриваються через переходи $3 \rightarrow 4 \rightarrow 1$; вузьке місце - перехід $3 \rightarrow 4$.

Фаза IV (процес (А)). Ця фаза реалізується завдяки відновленню правого краю C_2 , за рахунок обміну містками з розподілом C_1 . Відновлення відбувається через переходи $1 \rightarrow 2 / 2 \rightarrow 1$ при розтягуванні/скороченні. Обмін з розподілами C_3 та C_4 незначний, завдяки їхній низькій заселеності в області правого краю C_2 , а також великій константі k_{32} .

Другий сценарій реалізується в моделях M20, M21. В цих моделях константа швидкості k_{41} відриву поперечних містків має порівняно менше значення; швидкість зв'язування більша. Завдяки цьому в цих моделях підвищується рівень заселеності другого сильнозв'язаного стану (C_4). Особливістю цих моделей є порівняно великі значення жорсткості поперечних містків, таблиця 7.1. Загальні особливості формування експоненційних процесів відповідно до цього сценарію є такими:

Фаза II (процес (С)). В другому сценарії ця фаза реалізується завдяки відновленню правого краю C_4 через обмін містками з правим краєм C_3 при скороченні або з C_1 при розтягуванні. На відміну від 1-го сценарію, в області правого краю C_3 , k_{32} має більш високі значення. Як і в сценарії 1, зміни заселеності правого краю C_3 та C_4 і лівого C_2 носять антагоністичний характер, але завдяки більшим значенням k_{32} , у стаціонарному стані лівий край C_2 заселений більше. Також більші значення k_{32} призводять до швидкого відновлення правого краю C_3 (переходи $3 \rightarrow 2$) зі швидкістю, що перевищує швидкість процесу (С). Завдяки

константам k_{34} та k_{43} обмін містками розподілу C_4 з розподілами C_2 та C_3 відбувається більш повільно. При скорченні він буде відновлюватися завдяки місткам вже відновленого правого краю C_3 ($3 \rightarrow 4$). При розтягуванні місткі цього краю відриваються в вільний стан ($4 \rightarrow 1$).

Фаза III (процес (B)). Ця фаза реалізується завдяки відновленню лівого краю розподілів C_3 та C_4 . При скороченні зменшення заселеності відбувається завдяки відривам $3 \rightarrow 4 \rightarrow 1$. При розтягуванні збільшення заселеності – результат переходів $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3 \rightarrow 4$; вузьке місце - переходи $1 \rightarrow 2$. Відмінність від сценарію 1 – більша заселеність C_4 та наявність більшого вкладу містків в цьому стані в загальну силу.

Фаза IV (процес (A)). Не відрізняється від сценарію 1.

В наведеному вище аналізі ми розглядали природу силового відгуку на східчасті зміни довжини. Але знайдені закономірності також можуть бути перенесені і на частотні характеристики. В цьому випадку частотні характеристики всієї системи будуть визначатися частотними характеристиками країв розподілів. Краї поведуться подібно фільтру високих частот, частота зрізу (f_c) якого визначається характерною швидкістю відновлення краю. Рис. 7.15 ілюструє такі частотні характеристики для чотирьох країв двох розподілів поперечних містків в слабозв'язаному стані (C_2) та сильнозв'язаному стані (C_3). Ці частотні характеристики були отримані за допомогою спрощених моделей кожного з цих країв. Припускалось, що кожен край має прямокутну форму. В моделі задавались положення краю та характерна швидкість відновлення. Математично край представлявся відповідним одновимірним лінійним рівнянням переносу з хімічними реакціями. За виключенням лівого краю C_2 , всі інші краї знаходяться в ділянках з позитивною деформацією. Як можна бачити з рис. 7.15,b, на частотах, значно менших за частоту зрізу, фаза змін сили близька до 90° для всіх країв розподілу слабозв'язаних містків C_2 і правого C_3 ; для лівого краю C_3 фаза є близькою до -90° . Підсилення дорівнює нулю для всіх країв, рис. 7.15,a. На таких частотах коливань довжини край фактично буде залишатись в стаціонарному стані та не буде давати вкладу в зміни сили.

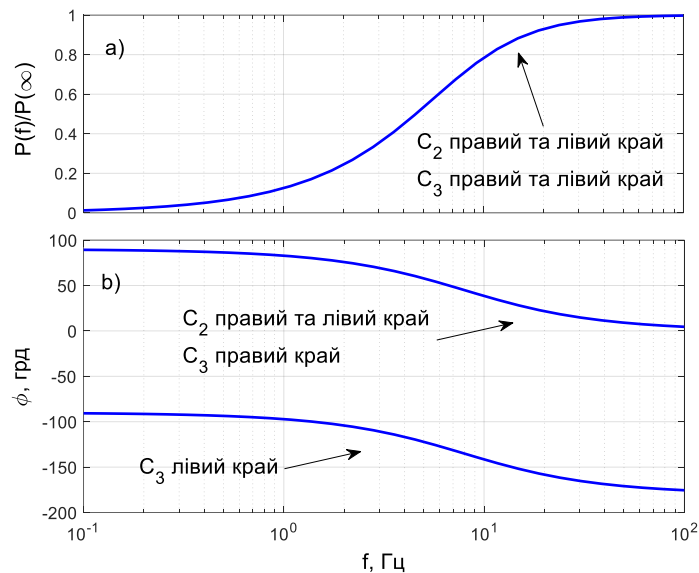


Рис. 7.15. АЧХ (а) та ФЧХ (б) країв розподілів C_2 і C_3 , що мають прямокутну форму. Ефективна швидкість відновлення всіх країв однакова та дорівнює 50с^{-1} .

На частотах, що є значно більшими за частоту зрізу, краї будуть зміщуватися як ціле, з амплітудою, що приблизно пропорційна амплітуді змін довжини. У цьому випадку амплітуда коливань сили буде максимальна (рис. 7.15,а); краї поведуть себе як виключно еластичний елемент. На цих частотах фаза змін сили близька до 0° для всіх країв C_2 та правого C_3 (коливання сили є синфазними до коливань довжини); для лівого краю C_3 фаза близька до -180° (рис. 7.15 б) - лівий край C_3 інвертує вхідний сигнал, що пов'язано з тим, що для цього краю зміни довжини й сили носять антагоністичний характер (збільшення довжини призводить до зменшення заселеності й сили та навпаки).

Якщо ж частота коливань довжини є близькою до характерної частоти відновлення краю, одночасно з переміщеннями краю відбуваються складні зміни його форми, рис. 7.16. Зміна форми розподілу відбувається не тільки завдяки механічній силі, що змінює довжину, але так само й завдяки хімічним процесам, що відновлюють розподіли до ізометричної форми (швидкість цих процесів буде близькою до частоти коливань довжини). При коливаннях правого краю C_3 , у фазі скорочення, сила зменшується, але в певний момент, коли скорочення ще не завершилося, процеси відновлення краю починають переважати, відновлюючи

форму краю швидше, ніж він зміщується (рис. 7.16 a-d). Сила починає зростати ще до закінчення фази скорочення та початку розтягування. Аналогічно при розтягуванні, сила почне падати раніше завершення цієї фази. У результаті маємо відставання по фазі ($\phi \rightarrow 90^\circ$ при $f \rightarrow 0$; рис. 7.16, a-b). Правий і лівий край C_2 поведуться так само, як і правий край C_3 (рис. 7.16, a-b). У випадку лівого краю C_3 будемо мати аналогічну ситуацію (рис. 7.16 e-h), але тепер фаза буде негативною ($\phi \rightarrow -90^\circ$ при $f \rightarrow 0$; рис. 7.16, e-f).

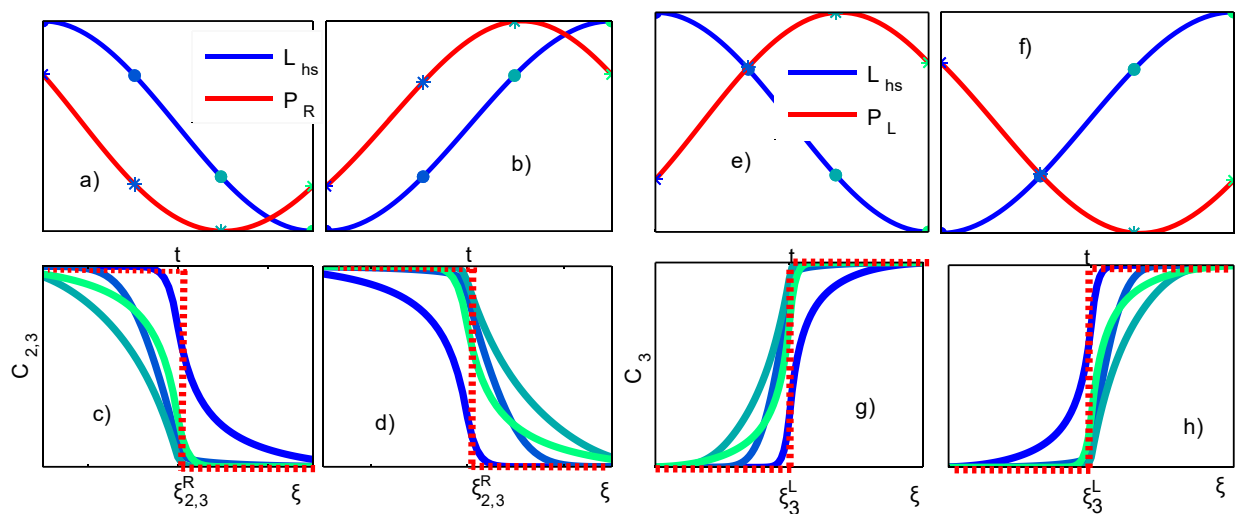


Рис. 7.16. Просторово-часова динаміка країв розподілів поперечних містків в слабо (C_2) та сильнозв'язаних (C_3) станах, що мають прямокутну форму та динаміка зміни сили при гармонійних змінах довжини півсаркомеру з частотою коливань, що є порівнянною зі швидкістю відновлення краю. Для розподілу C_2 показаний тільки правий край. На рис. а), б), е), ф) показані зміни довжини $L_{hs}(t)$ та силовий відгук $P_L(t)$ –лівого та $P_L(t)$ –правого країв; амплітуди кривих нормовані. На рис. с) та д) показана динаміка зміни правих країв, на рис. г) та h) – лівих. Кольори ліній розподілів на рис. с), д), г) та h) відповідають кольорам маркерів на рис. а), б), е) та ф), які позначають різні моменти часу. Пунктирною лінією на рис. с), д), г) та h) показані контури ізометричного розподілу.

Відповідність між статичними та динамічними параметрами перехідних та частотних характеристик активного м'язового волокна і статичними та динамічними

параметрами збурених країв розподілів зв'язаних поперечних містків, наведена в таблиці 7.5.

Таблиця 7.5

Молекулярні детермінанти перехідних та частотних характеристик активного м'язового волокна

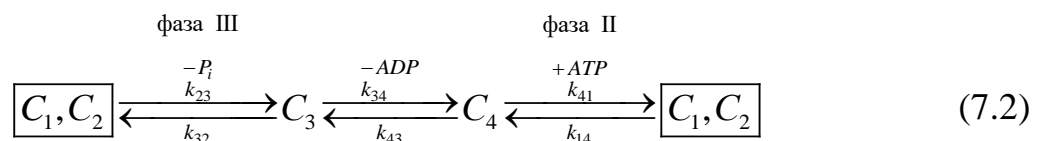
Макроскопічна величина		Молекулярний детермінант
Перехідні характеристики	Частотні характеристики	
Три фази силового відгуку	Три арки годографу Найквіста	Перехідні та частотні характеристики щонайменше трьох країв розподілів зв'язаних поперечних містків
Експоненційні - процеси (А), (С) - процеси (В)	- арка нижніх, високих частот - арка середніх частот	- праві краї - ліві краї
Початкові амплітуди експоненційних процесів	Амплітуда коливань сили на безкінечній частоті	Стационарна заселеність відповідного краю, його форма та середня деформація містків, що йому належать
Напрямок змін експоненційного процесу	Знак набігання фази та границя ФЧХ на безкінечній частоті ($\varphi_B(\omega=\infty)=-\pi$, $\varphi_{(A,C)}(\omega=\infty)=0$)	Тип краю (лівий чи правий)
Характерні швидкості експоненційних процесів ($2\pi a, 2\pi b, 2\pi c$)	Характерні частоти (a, b, c)	Ефективні швидкості відновлення країв

7.3.3. Обговорення результатів.

Як ми бачили, в моделях, отриманих шляхом автоматичної оптимізації (таблиця 7.1), було отримано два сценарії молекулярних подій, що лежать в основі перехідних процесів (А), (В) та (С). Відмінності цих сценаріїв, в першу чергу, пов'язані з відмінностями значень константи k_{41} . В одному випадку вона є більшою, в другому - меншою. Зменшення цієї константи швидкості збільшувало заселеність стану 4, що збільшувало його вклад в динаміку сили півсаркомеру. В цих двох сценаріях **процес (С)** виникає внаслідок відновлення правого краю розподілу C_3 або, ще додатково, правого краю розподілу C_4 . Це відновлення пов'язане або з переходами, сполученим з виконанням прямого та зворотного робочого ходу (переходи $2 \rightleftharpoons 3$), або при розтягуванні, з відривами поперечних містків зі стану 4, табл. 7.6. **Процес (В)** пов'язаний зі зв'язуваннями або відривами в перший 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 $1 \rightleftharpoons 2$).

Порівняємо отримані сценарії з кінетичною моделлю, що була запропонована в роботі [7]. Модель з роботи [7] було отримано на основі підгонки кінетичної моделі до експериментальних даних впливу лігандів на частотні характеристики м'язового волокна кролика. Ця модель може бути представлена ефективною трьох-стадійною схемою [7]:



Вільні (C_1) та слабозв'язані (C_2) містки об'єднані в один ефективний стан. C_3 та C_4 є сильнозв'язаними станами. Перехід $2 \rightarrow 3$ супроводжується виконанням робочого ходу. Константи швидкостей для цього циклу наведені в таблиці В.1. Відповідно до [7], фаза II силового відгуку на східчасті зміни довжини (процес (C)) має бути пов'язана зі змінами заселеності другого сильнозв'язаного стану (C_4). Швидкість цих змін має бути обумовлена швидкістю переходів цих містків в вільний стан та назад ($k_{41} + k_{14}$), цей перехід сполучений з відривом АДФ та зв'язуванням АТФ. Фаза III (процес В) має бути пов'язана зі змінами заселеності першого сильнозв'язаного стану (C_3). Швидкість цих змін визначається константами швидкості переходів від вільного стану в сильнозв'язаний ($k_{23} + k_{32}$). Фаза IV (процес (A)) не може бути пояснена тільки в рамках кінетичної схеми (7.2), оскільки її динаміка описується тільки двома експоненційними процесами [7]. Процес (A) пов'язується з повільними переходами $3 \rightleftharpoons 4$ за наявності послідовної еластичності в саркомері.

Відповідність експоненційних процесів (A), (B) та (C) різним стадіям кінетичного циклу для моделей з таблиці 7.1 дещо відрізняється від моделі [7]. Всі моделі з таблиці 7.1 мають окремий від вільного слабозв'язаний стан. Фаза II є результатом змін заселеності першого сильнозв'язаного стану (C_3), в результаті обміну поперечними містками зі слабозв'язаним станом (C_2). В моделях M20 та

M21, аналогічно до [7], в формуванні фази II приймає участь другий сильнозв'язаний стан (C_4), але зміни його заселеності відбуваються завдяки обміну з фракцією вільних містків тільки при розтягуванні. Основна причина цих відмінностей, це відсутність в наших моделях переходу $4 \rightarrow 1$, який присутній в кінетичній моделі [7]. Такий перехід припускає наявність робочого ходу поперечних містків при переході від вільного до другого сильнозв'язаного стану, що є незрозумілим зі структурної точки зору. Відсутність переходу $4 \rightarrow 1$ призводить до зменшення заселеності другого сильнозв'язаного стану та зменшення вкладу цих містків в загальну силу. Зменшення константи швидкості k_{41} може збільшити цю заселеність (M20 та M21) але, з другого боку, це зменшує ефективну швидкість експоненційного процесу, пов'язаного з переходами $4 \rightarrow 1$. Фаза III в моделях з таблиці 7.1, аналогічно до [7], пов'язана зі змінами розподілу поперечних містків в першому сильнозв'язаному стані (C_3), але швидкість цих змін лімітується обміном містками з вільним станом тільки у випадку розтягування. Фаза IV в моделях з таблиці 7.1 пов'язана з повільними переходами $1 \rightleftharpoons 2$. Схематично результати порівняння представлені в таблиці 7.6.

Оскільки методи автоматичної оптимізації не дають гарантії того, що буде знайдений глобальний мінімум цільової функції, отримані нами результати не свідчать про те, що в просторово розподіленій моделі не може бути реалізований сценарій, подібний до моделі [7]. Використовуючи узагальнення стосовно молекулярного механізму перехідних процесів, які були зроблені на основі аналізу отриманих оптимальних моделей (і які виходять за межі конкретного сценарію, отриманого в цих моделях), можна побудувати спрощену модель, яка дозволить оцінити можливість альтернативних сценаріїв. Ми бачили, що фактично в просторово розподіленій моделі може реалізуватись паралельно декілька незалежних механохімічних циклів. Завдяки тому, що константи швидкості залежать від деформації поперечних містків, групи містків з різною деформацією фактично будуть мати різні кінетичні цикли, що відрізняються значеннями констант швидкостей кінетичних переходів. Таким чином, більш адекватною апроксимацією

Таблиця 7.6

Порівняння прив'язки експоненційних процесів до певних хімічних переходів та станів поперечних містків в моделях, отриманих в результаті оптимізації (таблиця 7.1), та в роботі [7]. Переходи, з якими пов'язані експоненційні процеси, виділені кольором (сині стрілки – східчасте скорочення, червоний – розтягування), стани виділені рамкою. Для процесу (А) в [7] припускається, що він пов'язаний з повільними переходами $3 \rightarrow 4$.

Процес (С)	<p>(оптимізація)</p>
	<p>(Kawai)</p>
Процес (В)	<p>(оптимізація)</p>
	<p>(Kawai)</p>
Процес (А)	<p>(оптимізація)</p>
	<p>(Kawai)</p>

просторово розподіленої моделі може бути кінетична модель, що включає не один, а декілька паралельних механохімічних циклів. Кожен з них буде відобразити циклічні перетворення містків на окремих ділянках деформацій їх еластичного елемента, важливих з точки зору генерації силового відгуку на східчасті зміни довжини. При східчастих змінах довжини ці цикли будуть зв'язані між собою через початкові умови (в силу адвективного зміщення стаціонарної заселеності вздовж простору деформацій). Також такі моделі можуть бути використані для формування обмежень та початкових значень параметрів при створенні більш складної

просторово розподіленої моделі. Їх використання робить процес створення такої моделі більш евристичним.

Спробуємо далі вручну створити такий спрощений варіант просторово розподіленої моделі, в якому прив'язка експоненційних процесів до механохімічних переходів буде аналогічною [7]. Наведені нижче моделі носять оціночний характер і для більш точного кількісного відтворення експериментальних результатів потребують комп'ютерної оптимізації. Спочатку розглянемо модель, що включає три ефективні стани: вільний (стан 1) та два сильнозв'язані (стани 2 та 3). Відповідно до [7], ми спробуємо прив'язати процеси (С) та (В) до змін другого (переходи $3 \rightleftharpoons 1$) та першого сильнозв'язаного (переходи $1 \rightleftharpoons 2$) станів відповідно. Нас будуть цікавити тільки зміни заселеності поперечних містків, що відбуваються на краях розподілів при східчастих змінах довжини, причому ми замінимо заселеності та константи швидкості на їх середні значення на відповідних ділянках деформацій. На рис. 7.17 така заміна проілюстрована для розподілів містків у вільному (C_1) та першому сильнозв'язаному станах (C_2). На цьому малюнку C_i^m та k_{ij}^m представляють середні значення заселеності в стані i та константи швидкості переходу $i \rightarrow j$ для m -ої ділянки. C_i^1 , k_{ij}^1 та C_i^2 , k_{ij}^2 представляють лівий край, C_i^3 , k_{ij}^3 та C_i^4 , k_{ij}^4 – правий.

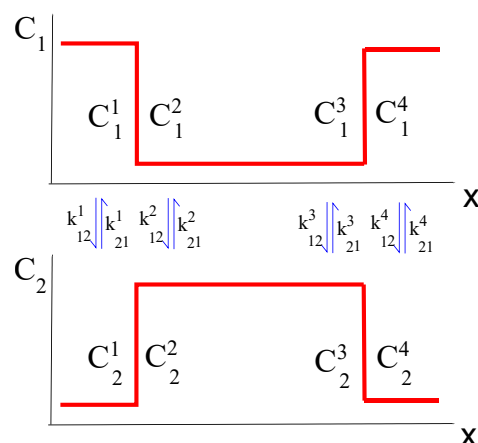


Рис. 7.17. Спрощена модель – середні значення заселеності та констант швидкості для чотирьох ділянок деформацій, розподілів заселеності поперечних містків.

Таким чином, на відміну від моделі [7], спрощена модель буде мати чотири незалежні механохімічні цикли, кожен з яких представляє процеси перетворення містків на чотирьох ділянках деформацій. Константи швидкостей хімічних переходів в цих циклах наведені в таблиці 7.7. Константи швидкості обирались на онові трьохстадійної моделі [7] (також див. таблицю В.1). На відміну від [7], ми припускали, що в усіх випадках переходи $1 \rightarrow 3$ відсутні.

Таблиця 7.7

Константи швидкостей механохімічних переходів в спрощеній моделі.

i, j	$k_{ij}^1 / k_{ji}^1, c^{-1}$	$k_{ij}^2 / k_{ji}^2, c^{-1}$	$k_{ij}^3 / k_{ji}^3, c^{-1}$	$k_{ij}^4 / k_{ji}^4, c^{-1}$
1,2	0.1/50	25/20	25/20	0.1/50
2,3	10/0.003	10/0.003	100/0.003	100/100
3,1	380/	180/	380/	580/

При східчастих змінах довжини цикли пов'язані між собою через початкові умови. При розтягуванні нас будуть цікавити тільки зміни заселеності на ділянках $m=2,4$; початковими умовами будуть:

$$C_i^2(t=0) = \bar{C}_i^1, \quad C_i^4(t=0) = \bar{C}_i^3 \quad (7.3)$$

де \bar{C}_i^m - стаціонарні заселеності поперечних містків в стані i для механохімічного циклу, що описує m -ту ділянку деформацій. При скороченні нас будуть цікавити тільки зміни заселеності на ділянках $m=1,3$; початкові умови:

$$C_i^1(t=0) = \bar{C}_i^2, \quad C_i^3(t=0) = \bar{C}_i^4 \quad (7.4)$$

Стаціонарні заселеності для кожного з чотирьох кінетичних циклів наведені в таблиці 7.8.

Таблиця 7.8

Стаціонарні заселеності

i	\bar{C}_i^1	\bar{C}_i^2	\bar{C}_i^3	\bar{C}_i^4
1	0.9983	0.5367	0.7796	0.9994
2	0.0017	0.4473	0.1624	0.0005
3	0.0000	0.0160	0.0580	0.0001

Динаміка змін сили при східчастому розтягуванні обчислювались як:

$$F(t) \sim \sum_{i=2}^3 (C_i^2(t) - \bar{C}_i^2) + q \sum_{i=2}^3 (C_i^4(t) - \bar{C}_i^4) \quad (7.5)$$

При скороченні:

$$F(t) \sim \sum_{i=2}^3 (C_i^1(t) - \bar{C}_i^1) + f \sum_{i=2}^3 (C_i^3(t) - \bar{C}_i^3) \quad (7.6)$$

Зміни сили, що обумовлені відновленням заселеності правого краю, множаться на константу $f > 1$. Наявність цього множника виражає той факт, що містки правого краю повинні давати більшу силу, оскільки їх середня деформація є більшою.

Динаміка заселеності в межах кожного циклу може бути представлена відповідною системою лінійних ЗДР. Якщо представити цю систему в матричній формі, для матриці \mathbf{K} , що буде включати константи швидкостей хімічних переходів, можуть бути знайдені власні значення та вектори. Вони характеризують динаміку заселеності: власні значення – характерний час змін заселеності, власні вектори – їхню амплітуду. В силу істотної відмінності констант швидкостей різних етапів кожного з механохімічних циклів (таблиця 7.7), їх власні значення будуть дійсними, кожен з циклів буде мати по два значення, які відрізняються від нуля [7]. В таблиці 7.9 для кожного з механохімічних циклів наведені ненульові власні значення λ_k^m та відповідні до них значення власних векторів $A_{k,i}^m$, індекс m означає номер ділянки, до якої належить цикл, індекс k – номер власного значення та номер компоненти власного вектору, що відповідає йому, i – номер хімічного стану. Значення $A_{k,i}^m$ наведені тільки для зв'язаних станів ($i=2,3$)

Таблиця 7.9

Власні значення та власні вектори матриці \mathbf{K}

		$m=1$	$m=2$	$m=3$	$m=4$
	$\lambda_1^m, \text{c}^{-1}$	-60.1030	-57.0327	-156.1673	-131.8737
	$\lambda_2^m, \text{c}^{-1}$	-380.0005	-177.9708	-368.8362	-698.2298
$i=2$	$A_{1,i}^m$	0.4417	-0.4440	-0.1677	0.1665
	$A_{2,i}^m$	0.0000	0.0023	0.0035	-0.0024
$i=3$	$A_{1,i}^m$	0.0138	-0.0361	-0.0749	0.0304
	$A_{2,i}^m$	0.0108	0.0115	0.0316	0.0129

Аналогічно до трьохстадійної моделі [7], у силовому відгуку на східчає розтягування та скорочення присутні фази II та III, рис. 7.18. Як можна бачити з

таблиці 7.9, як при скороченні, так і при розтягуванні фаза II обумовлена динамікою змін другого сильнозв'язаного стану (C_3), фаза III – динамікою змін першого сильнозв'язаного стану (C_2). Швидкість фази III переважно визначається швидкістю переходів $1 \rightleftharpoons 2$.

За відсутності переходів $1 \rightarrow 3$ при скороченні відновлення заселеності правого краю C_3 відбувається виключно через переходи $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3$. Тому, на відміну від моделі [7], при скороченні швидкість фази II буде залежати від констант швидкості k_{12} , k_{21} , k_{23} та k_{32} . Зокрема, значення k_{23} на ділянці деформацій, що належать правому краю, мають бути достатньо великими і більшими за значення з лівого краю.

За відсутності переходів $1 \rightarrow 3$ другий сильнозв'язаний стан є малозаселеним для того, аби амплітуда процесу (C) була порівнянною з амплітудою процесу (B); правий край розподілу цих містків має знаходитись на достатній відстані від лівого краю, або перехід $2 \rightarrow 3$ має супроводжуватись виконанням другого робочого ходу. Також це обмежує збільшення величини k_{31} . При розрахунках силового відгуку рис. 7.18, ми прийняли $f = 2$.

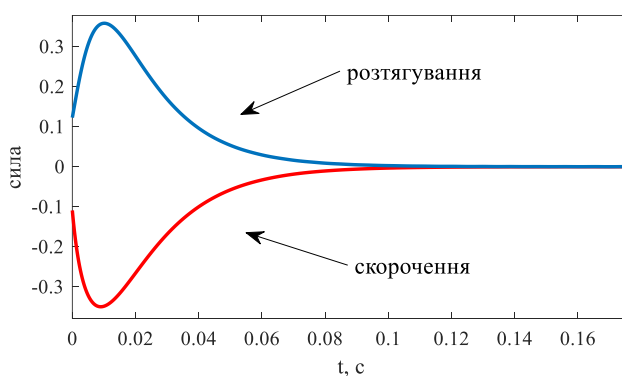


Рис. 7.18. Силний відгук на східчате скорочення та розтягування в спрощеній моделі. Сила нормована до ізометричної.

Відокремлення слабозв'язаного стану від вільного в схемі (7.2), коли обмін містками між ним відбувається достатньо швидко, не вирішує проблем схеми (7.2), описаних вище. В таблиці 7.10 наведені константи швидкості для такої моделі. На відміну від попередньої моделі, в цій моделі буде 4 хімічні стани: стан 1 – вільні

містки; стан 2 – слабозв’язані; стани 3, 4 – сильнозв’язані містки. Перехід 2 → 3 супроводжується виконанням робочого ходу величиною d . Аналогічно до попередньої моделі, всі розподіли вважаються прямокутними, з однаковою шириною L . Центр розподілу слабозв’язаних містків знаходиться в нульовій деформації.

Таблиця 7.10

Константи швидкостей механохімічних переходів в спрощеній моделі.

i, j	$k_{ij}^1 / k_{ji}^1, c^{-1}$	$k_{ij}^2 / k_{ji}^2, c^{-1}$	$k_{ij}^3 / k_{ji}^3, c^{-1}$	$k_{ij}^4 / k_{ji}^4, c^{-1}$
1,2	1/300	1000/900	1000/900	1/300
2,3	80/40	80/10	80/100	80/200
3,4	10/0.003	10/0.003	100/100	100/200
4,1	200/0	200/0	200/0	200/0

Динаміка змін сили при східчастому розтягуванні обчислювалась як:

$$F(t) \sim \sum_{i=2}^4 f_i^2 (C_i^2(t) - \bar{C}_i^2) + \sum_{i=2}^4 f_i^4 (C_i^4(t) - \bar{C}_i^4) \quad (7.7)$$

При скороченні:

$$F(t) \sim \sum_{i=2}^4 f_i^1 (C_i^2(t) - \bar{C}_i^2) + \sum_{i=2}^4 f_i^3 (C_i^4(t) - \bar{C}_i^4) \quad (7.8)$$

Коефіцієнти f_i^m виражають той факт, що поперечні містки з різних ділянок розподілів, маючи різну деформацію, дають різний вклад в силу; вони мають наступний вигляд:

$$f_i^m = \begin{cases} -L/2 & i=2, m=1,2 \\ L/2 & i=2, m=3,4 \\ d-L/2 & i=3,4, m=1,2 \\ d+L/2 & i=3,4, m=3,4 \end{cases} \quad (7.9)$$

Якщо прийняти $L=5$ нм, а $d=7$ нм (модель М8), містки правого краю в сильнозв’язаних станах ($i=3,4, m=3,4$) будуть генерувати силу приблизно вдвічі більшу, ніж лівого ($i=3,4, m=1,2$).

Стаціонарні заселеності, власні значення кінетичних моделей та силовий відгук наведені в таблицях 7.11, 7.12 та на рис. 7.19.

Таблиця 7.11

Стационарні заселеності

i	\bar{C}_i^1	\bar{C}_i^2	\bar{C}_i^3	\bar{C}_i^4
1	0.99159	0.15309	0.36236	0.99559
2	0.0031379	0.16287	0.3888	0.0031506
3	0.0050207	0.65147	0.18663	0.0010082
4	0.00025103	0.032573	0.062208	0.00025205

Як видно з таблиці 7.10, фаза II при скороченні пов'язана з переходами $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3 \rightarrow 4$. Таким чином, результати наведених спрощених моделей показують можливість реалізації процесу (B) та складності реалізації процесу (C) в просторово розподіленій моделі, відповідно до сценарію, який був запропонований в роботі [7].

Таблиця 7.12

Власні значення та власні вектори матриці \mathbf{K}

		$m=1$	$m=2$	$m=3$	$m=4$
	$\lambda_1^m, \text{c}^{-1}$	-40.842	-64.425	-189.96	-150.75
	$\lambda_2^m, \text{c}^{-1}$	-199.98	-196.61	-348.72	-388.98
	$\lambda_3^m, \text{c}^{-1}$	-390.18	-1939	-1941.3	-541.27
$i=3$	$A_{1,i}^m$	0.66609	-0.67411	-0.16576	0.22778
	$A_{2,i}^m$	-2.7689e-05	0.0059459	-0.043925	-0.006059
	$A_{3,i}^m$	-0.01962	0.021718	0.024072	-0.0361
$i=4$	$A_{1,i}^m$	0.04185	-0.049721	-0.15064	0.091386
	$A_{2,i}^m$	-0.01056	0.017524	0.09015	-0.054984
	$A_{3,i}^m$	0.0010316	-0.00012489	-0.0014666	0.025555

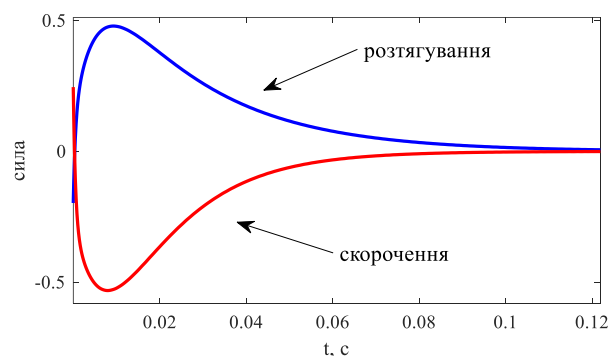


Рис. 7.19. Силевий відгук на східчасте скорочення та розтягування в спрощеній моделі. Сила нормована до ізометричної.

Отримані нами результати показують важливість просторової складової в механізмі формування експоненційних процесів. Зокрема, важливе значення мають ефекти, що виникають в просторово-часовій динаміці розподілів заселеності поперечних містків при збуреннях довжини, пов'язані з їх просторовою формою. Ці ефекти реалізуються при різноманітних молекулярних сценаріях перехідних процесів та можуть розглядатись як загальні обмеження, що мають бути враховані при побудові інших моделей, що відтворюють в'язкопружні характеристики активного м'язу. Існує ряд моделей в'язкопружних властивостей, які, порівняно з просторово розподіленою моделлю, використовують ряд спрощень. Так, в моделях [84, 99] (також дивіться розділ 1.4.3) використовується спрощене представлення механічного стану популяції поперечних містків. В ізометричному режимі всі поперечні містки мають одне значення деформації x_0 (розподілена величина деформації поперечних містків заміняється її середнім значенням). При східчастих змінах довжини δx в даний момент часу буде існувати два значення деформації – x_0 та $x_0 + \delta x$. Таке спрощення не дозволяє адекватно відтворити умови нормування для популяції поперечних містків, що виникають в ґратці саркомеру та можуть бути відтворені в просторово розподіленій моделі (6.8), (6.15). Як наслідок, така модель не може адекватно відтворити співвідношення, що існують між змінами довжини та сили, які виникають завдяки перехідним змінам заселеності з лівого краю сильнозв'язаних розподілів. В моделях [84, 99] було відтворене тільки процес (С); процес (В) подібна модель не може відтворити принципово.

7.4. Висновки до розділу

1. В рамках формалізму, запропонованого в розділі 6, було побудовано детерміністичну просторово розподілену модель, що дозволяє відтворити частотні характеристики активного м'язового волокна кролика. В результаті припасування моделі до експериментальних частотних характеристик з різними початковими наборами параметрів та обмежень інтервалів їх варіювання, було отримано декілька наборів параметрів, що дозволяють відтворити експериментальні частотні та перехідні характеристики. Було показано, що в рамках отриманих моделей

реалізуються два можливих сценарії прив'язки експоненційних процесів (А), (В) та (С) до певних хімічних переходів в механохімічному циклі. В цих моделях процес (С) реалізовувався або завдяки переходам, сполученим з виконанням прямого та зворотного робочого ходу, або при розтягуванні, завдяки відривам поперечних містків. Процес (В) пов'язаний зі зв'язуваннями або відривами в перший сильнозв'язаний стан (Міозин • Актин • АДФ). Процес (А) пов'язаний з обміном поперечними містками між вільним та слабозв'язаним станами. Ці сценарії лише частково узгоджуються зі схемою, запропонованою в [7].

2. Аналіз отриманих результатів дозволив виділити ряд важливих закономірностей стосовно ролі просторової складової в реалізації механізму в'язкопружних характеристик. Експоненційні процеси є наслідком крайових ефектів, що виникають на межі суміжних ділянок розподілів поперечних містків з різним рівнем заселеності. Зміни довжини викликають різкі адвективні зміни заселеності крайових ділянок. Їх послідує відновлення до ізометричної форми, внаслідок хімічних переходів, визначає динаміку експоненційних процесів. Різним експоненційним процесам відповідають різні краї одного чи різних розподілів заселеності. Динамічні параметри експоненційних процесів пов'язані з динамічними та геометричними параметрами певних крайових ділянок певних розподілів. Швидкість експоненційного процесу визначається ефективною швидкістю відновлення крайової ділянки, заселеність якої була збурена; амплітуда експоненційного процесу залежить від ізометричного рівня заселеності суміжних ділянок та середньої деформації поперечних містків, які їм належать; напрямок змін експоненційного процесу чи фаза гармонійного відгуку (границя фазово-частотних характеристик на безкінечній частоті) визначаються розташуванням краю – правий він (амплітуда позитивна, фаза 0°) чи лівий (амплітуда негативна, фаза -90°). Звідси витікає, що процесам (А) та (С) можуть відповідати праві краї, процесу (В) – лівий.

3. На основі отриманих закономірностей запропонований підхід для створення спрощених кінетичних моделей, що дозволяють відтворити відгук на східчасті зміни довжини. Для того, аби врахувати ефекти, наявні в просторово розподіленій моделі, в цих моделях розглядається декілька паралельних точкових

кінетичних циклів, що представляють циклічну роботу поперечних містків на декількох ділянках їх деформацій, важливих з точки зору формування експоненційних процесів. Для того аби врахувати адвективні зміни заселеності при змінах довжини, ці кінетичні цикли пов'язані між собою початковими умовами. Цей підхід було використано для оцінки можливості альтернативних сценаріїв прив'язки експоненційних процесів до хімічних переходів механохімічного циклу, до тих, що були отримані при оптимізації. Показана можливість реалізації процесу (В) відповідно до сценарію, що був запропонований в роботі [7]. Разом з тим, припущення моделі [7] про те, що процес (С) при скороченні, пов'язаний зі зменшенням відривів поперечних містків зі стану ригору та збільшення їх кількості в цьому стані, може бути реалізоване тільки при наявності зворотних переходів між вільним станом та станом ригору. Реалізація останньої умови стикається зі складнощами в просторово розподіленій моделі.

Основні положення цього розділу опубліковані в роботах [162-164]

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. Сходінки 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 сходінок 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Getz E.B., Cooke R., Lehman S.L. Phase transition in force during ramp stretches of skeletal muscle. *Biophys J.* 1998. Vol. 75, No 6. P. 2971-83. doi: 10.1016/S0006-3495(98)77738-0
2. Edman K.A., Curtin N.A. Synchronous oscillations of length and stiffness during loaded shortening of frog muscle fibres. *J Physiol.* 2001. Vol. 534, No Pt. 2. P. 553-63. doi: 10.1111/j.1469-7793.2001.t01-2-00553.x
3. Nagornyak E.M., Pollack G.H., Blyakhman F.A. Step size in activated rabbit sarcomers is independent of filament overlap. *Journal of Mechanics in Medicine and Biology.* 2004. Vol. 04, No 04. P. 485-498. doi: 10.1142/S0219519404001181
4. Pollack G.H., Blyakhman F.A., Liu X., Nagomyak E. *Sarcomere Dynamics, Stepwise Shortening and the Nature of Contraction.* Boston, MA: Springer US, 2005. P. 113-126.
5. Yakovenko O., Blyakhman F., Pollack G.H. Fundamental step size in single cardiac and skeletal sarcomeres. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002. Vol. 283, No 3. P. C735-42. doi: 10.1152/ajpcell.00069.2002
6. Liu X., Pollack G.H. Stepwise sliding of single actin and Myosin filaments. *Biophys J.* 2004. Vol. 86, No 1 Pt 1. P. 353-8. doi: 10.1016/S0006-3495(04)74111-9
7. Kawai M., Halvorson H.R. Force transients and minimum cross-bridge models in muscular contraction. *J Muscle Res Cell Motil.* 2007. Vol. 28, No 7-8. P. 371-95. doi: 10.1007/s10974-008-9131-3
8. Campbell K.S. Filament compliance effects can explain tension overshoots during force development. *Biophys J.* 2006. Vol. 91, No 11. P. 4102-9. doi: 10.1529/biophysj.106.087312
9. Daniel T.L., Trimble A.C., Chase P.B. Compliant realignment of binding sites in muscle: transient behavior and mechanical tuning. *Biophys J.* 1998. Vol. 74, No 4. P. 1611-21. doi: 10.1016/S0006-3495(98)77875-0
10. Tanner B.C., Daniel T.L., Regnier M. Sarcomere lattice geometry influences cooperative myosin binding in muscle. *PLoS Comput Biol.* 2007. Vol. 3, No 7. P. e115. doi: 10.1371/journal.pcbi.0030115

11. Huxley H.E., Stewart A., Sosa H., Irving T. X-ray diffraction measurements of the extensibility of actin and myosin filaments in contracting muscle. *Biophys J.* 1994. Vol. 67, No 6. P. 2411-21. doi: 10.1016/S0006-3495(94)80728-3
12. Wakabayashi K., Sugimoto Y., Tanaka H., Ueno Y., Takezawa Y., Amemiya Y. X-ray diffraction evidence for the extensibility of actin and myosin filaments during muscle contraction. *Biophys J.* 1994. Vol. 67, No 6. P. 2422-35. doi: 10.1016/S0006-3495(94)80729-5
13. Goldman Y.E., Huxley A.F. Actin compliance: are you pulling my chain? *Biophys J.* 1994. Vol. 67, No 6. P. 2131-3.
14. Hao Y., Miller M.S., Swank D.M., Liu H., Bernstein S.I., Maughan D.W., Pollack G.H. Passive stiffness in *Drosophila* indirect flight muscle reduced by disrupting paramyosin phosphorylation, but not by embryonic myosin S2 hinge substitution. *Biophys J.* 2006. Vol. 91, No 12. P. 4500-6. doi: 10.1529/biophysj.106.088492
15. Henkin J.A., Maughan D.W., Vigoreaux J.O. Mutations that affect flightin expression in *Drosophila* alter the viscoelastic properties of flight muscle fibers. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004. Vol. 286, No 1. P. C65-72. doi: 10.1152/ajpcell.00257.2003
16. Miller M.S., Lekkas P., Braddock J.M., Farman G.P., Ballif B.A., Irving T.C., Maughan D.W., Vigoreaux J.O. Aging enhances indirect flight muscle fiber performance yet decreases flight ability in *Drosophila*. *Biophys J.* 2008. Vol. 95, No 5. P. 2391-401. doi: 10.1529/biophysj.108.130005
17. Palmer B.M., McConnell B.K., Li G.H., Seidman C.E., Seidman J.G., Irving T.C., Alpert N.R., Maughan D.W. Reduced cross-bridge dependent stiffness of skinned myocardium from mice lacking cardiac myosin binding protein-C. *Mol Cell Biochem.* 2004. Vol. 263, No 1-2. P. 73-80.
18. Luo Y., Cooke R., Pate E. A model of stress relaxation in cross-bridge systems: effect of a series elastic element. *Am J Physiol.* 1993. Vol. 265, No 1 Pt 1. P. C279-88.

19. Linari M., Piazzesi G., Lombardi V. The effect of myofilament compliance on kinetics of force generation by myosin motors in muscle. *Biophys J.* 2009. Vol. 96, No 2. P. 583-92. doi: 10.1016/j.bpj.2008.09.026
20. Piazzesi G., Reconditi M., Linari M., Lucii L., Bianco P., Brunello E., Decostre V., Stewart A., Gore D.B., Irving T.C., Irving M., Lombardi V. Skeletal muscle performance determined by modulation of number of myosin motors rather than motor force or stroke size. *Cell.* 2007. Vol. 131, No 4. P. 784-95. doi: 10.1016/j.cell.2007.09.045
21. Smith D.A., Mijailovich S.M. Toward a unified theory of muscle contraction. II: predictions with the mean-field approximation. *Ann Biomed Eng.* 2008. Vol. 36, No 8. P. 1353-71. doi: 10.1007/s10439-008-9514-z
22. Duke T.A. Molecular model of muscle contraction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999. Vol. 96, No 6. P. 2770-5. doi: 10.1073/pnas.96.6.2770
23. Vilfan A., Duke T. Instabilities in the transient response of muscle. *Biophys J.* 2003. Vol. 85, No 2. P. 818-27. doi: 10.1016/S0006-3495(03)74522-6
24. Huxley A.F. Muscle structure and theories of contraction. *Prog Biophys Biophys Chem.* 1957. Vol. 7. P. 255-318.
25. Dickinson M., Farman G., Frye M., Bekyarova T., Gore D., Maughan D., Irving T. Molecular dynamics of cyclically contracting insect flight muscle in vivo. *Nature.* 2005. Vol. 433, No 7023. P. 330-4. doi: 10.1038/nature03230
26. Takezawa Y., Sugimoto Y., Wakabayashi K. Extensibility of the actin and myosin filaments in various states of skeletal muscle as studied by X-ray diffraction. *Adv Exp Med Biol.* 1998. Vol. 453. P. 309-16; discussion 317.
27. Dunaway D., Fauver M., Pollack G. Direct measurement of single synthetic vertebrate thick filament elasticity using nanofabricated cantilevers. *Biophys J.* 2002. Vol. 82, No 6. P. 3128-33. doi: 10.1016/S0006-3495(02)75654-3
28. Yagi N., Amemiya Y., Wakabayashi K. A real-time observation of X-ray diffraction from frog skeletal muscle during and after slow length changes. *Jpn J Physiol.* 1995. Vol. 45, No 4. P. 583-606.

29. Neumann T., Fauver M., Pollack G.H. Elastic properties of isolated thick filaments measured by nanofabricated cantilevers. *Biophys J.* 1998. Vol. 75, No 2. P. 938-47. doi: 10.1016/S0006-3495(98)77582-4
30. Liu X., Pollack G.H. Mechanics of F-actin characterized with microfabricated cantilevers. *Biophys J.* 2002. Vol. 83, No 5. P. 2705-15. doi: 10.1016/S0006-3495(02)75280-6
31. Bordas J., Svensson A., Rothery M., Lowy J., Diakun G.P., Boesecke P. Extensibility and symmetry of actin filaments in contracting muscles. *Biophys J.* 1999. Vol. 77, No 6. P. 3197-207. doi: 10.1016/S0006-3495(99)77150-X
32. Higuchi H., Yanagida T., Goldman Y.E. Compliance of thin filaments in skinned fibers of rabbit skeletal muscle. *Biophys J.* 1995. Vol. 69, No 3. P. 1000-10. doi: 10.1016/S0006-3495(95)79975-1
33. Linari M., Dobbie I., Reconditi M., Koubassova N., Irving M., Piazzesi G., Lombardi V. The stiffness of skeletal muscle in isometric contraction and rigor: the fraction of myosin heads bound to actin. *Biophys J.* 1998. Vol. 74, No 5. P. 2459-73. doi: 10.1016/S0006-3495(98)77954-8
34. Bagni M.A., Cecchi G., Colombini B., Colomo F. Sarcomere tension-stiffness relation during the tetanus rise in single frog muscle fibres. *J Muscle Res Cell Motil.* 1999. Vol. 20, No 5-6. P. 469-76.
35. Kojima H., Ishijima A., Yanagida T. Direct measurement of stiffness of single actin filaments with and without tropomyosin by in vitro nanomanipulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994. Vol. 91, No 26. P. 12962-6.
36. Tawada K., Kimura M. Stiffness of carbodiimide-crosslinked glycerinated muscle fibres in rigor and relaxing solutions at high salt concentrations. *J Muscle Res Cell Motil.* 1986. Vol. 7, No 4. P. 339-50.
37. Palmer B.M., Georgakopoulos D., Janssen P.M., Wang Y., Alpert N.R., Belardi D.F., Harris S.P., Moss R.L., Burgon P.G., Seidman C.E., Seidman J.G., Maughan D.W., Kass D.A. Role of cardiac myosin binding protein C in sustaining left ventricular systolic stiffening. *Circ Res.* 2004. Vol. 94, No 9. P. 1249-55. doi: 10.1161/01.RES.0000126898.95550.31

38. Pringle J.W. The Croonian Lecture, 1977. Stretch activation of muscle: function and mechanism. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1978. Vol. 201, No 1143. P. 107-30.
39. Reedy M.C., Bullard B., Vigoreaux J.O. Flightin is essential for thick filament assembly and sarcomere stability in *Drosophila* flight muscles. *J Cell Biol.* 2000. Vol. 151, No 7. P. 1483-500.
40. Contompasis J.L., Nyland L.R., Maughan D.W., Vigoreaux J.O. Flightin is necessary for length determination, structural integrity, and large bending stiffness of insect flight muscle thick filaments. *J Mol Biol.* 2010. Vol. 395, No 2. P. 340-8. doi: 10.1016/j.jmb.2009.11.021
41. Huxley A.F., Simmons R.M. Proposed mechanism of force generation in striated muscle. *Nature.* 1971. Vol. 233, No 5321. P. 533-8.
42. Mijailovich S.M., Fredberg J.J., Butler J.P. On the theory of muscle contraction: filament extensibility and the development of isometric force and stiffness. *Biophys J.* 1996. Vol. 71, No 3. P. 1475-84. doi: 10.1016/S0006-3495(96)79348-7
43. Bagni M.A., Cecchi G., Schoenberg M. A model of force production that explains the lag between crossbridge attachment and force after electrical stimulation of striated muscle fibers. *Biophys J.* 1988. Vol. 54, No 6. P. 1105-14. doi: 10.1016/S0006-3495(88)83046-7
44. Ford L.E., Huxley A.F., Simmons R.M. Tension responses to sudden length change in stimulated frog muscle fibres near slack length. *J Physiol.* 1977. Vol. 269, No 2. P. 441-515.
45. Ford L.E., Huxley A.F., Simmons R.M. The relation between stiffness and filament overlap in stimulated frog muscle fibres. *J Physiol.* 1981. Vol. 311. P. 219-49.
46. Edman K.A. Double-hyperbolic force-velocity relation in frog muscle fibres. *J Physiol.* 1988. Vol. 404. P. 301-21.
47. Lombardi V., Piazzesi G. The contractile response during steady lengthening of stimulated frog muscle fibres. *J Physiol.* 1990. Vol. 431. P. 141-71.
48. Rassier D.E. Pre-power stroke cross bridges contribute to force during stretch of skeletal muscle myofibrils. *Proc Biol Sci.* 2008. Vol. 275, No 1651. P. 2577-86. doi: 10.1098/rspb.2008.0719

49. Edman K.A., Elzinga G., Noble M.I. Enhancement of mechanical performance by stretch during tetanic contractions of vertebrate skeletal muscle fibres. *J Physiol.* 1978. Vol. 281. P. 139-55.
50. Stienen G.J., Versteeg P.G., Papp Z., Elzinga G. Mechanical properties of skinned rabbit psoas and soleus muscle fibres during lengthening: effects of phosphate and Ca²⁺. *J Physiol.* 1992. Vol. 451. P. 503-23.
51. Abbott B.C., Aubert X.M. The force exerted by active striated muscle during and after change of length. *J Physiol.* 1952. Vol. 117, No 1. P. 77-86.
52. Linari M., Woledge R.C., Curtin N.A. Energy storage during stretch of active single fibres from frog skeletal muscle. *J Physiol.* 2003. Vol. 548, No Pt 2. P. 461-74. doi: 10.1113/jphysiol.2002.032185
53. Woledge R.C., Curtin N.A., Linari M. Energy storage during stretch of active single fibres. *Adv Exp Med Biol.* 2003. Vol. 538. P. 627-33; discussion 634.
54. Katz B. The relation between force and speed in muscular contraction. *J Physiol.* 1939. Vol. 96, No 1. P. 45-64.
55. Piazzesi G., Francini F., Linari M., Lombardi V. Tension transients during steady lengthening of tetanized muscle fibres of the frog. *J Physiol.* 1992. Vol. 445. P. 659-711.
56. Cavagna G.A. Effect of temperature and velocity of stretching on stress relaxation of contracting frog muscle fibres. *J Physiol.* 1993. Vol. 462. P. 161-73.
57. Julian F.J., Morgan D.L. The effect on tension of non-uniform distribution of length changes applied to frog muscle fibres. *J Physiol.* 1979. Vol. 293. P. 379-92.
58. Sugi H., Tsuchiya T. Enhancement of mechanical performance in frog muscle fibres after quick increases in load. *J Physiol.* 1981. Vol. 319. P. 239-52.
59. Edman K.A., Tsuchiya T. Strain of passive elements during force enhancement by stretch in frog muscle fibres. *J Physiol.* 1996. Vol. 490 (Pt 1). P. 191-205.
60. Morgan D.L. New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophys J.* 1990. Vol. 57, No 2. P. 209-21. doi: 10.1016/S0006-3495(90)82524-8
61. Brunello E., Reconditi M., Elangovan R., Linari M., Sun Y.B., Narayanan T., Panine P., Piazzesi G., Irving M., Lombardi V. Skeletal muscle resists stretch by

- rapid binding of the second motor domain of myosin to actin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007. Vol. 104, No 50. P. 20114-9. doi: 10.1073/pnas.0707626104
62. Fusi L., Reconditi M., Linari M., Brunello E., Elangovan R., Lombardi V., Piazzesi G. The mechanism of the resistance to stretch of isometrically contracting single muscle fibres. *J Physiol*. 2010. Vol. 588, No Pt 3. P. 495-510. doi: 10.1113/jphysiol.2009.178137
63. Linari M., Lucii L., Reconditi M., Casoni M.E., Amenitsch H., Bernstorff S., Piazzesi G., Lombardi V. A combined mechanical and X-ray diffraction study of stretch potentiation in single frog muscle fibres. *J Physiol*. 2000. Vol. 526 Pt 3. P. 589-96. doi: PHY_0813 [pii]
64. Zahalak G.I. A distribution-moment approximation for kinetic theories of muscular contraction. *Mathematical Biosciences*. 1981. Vol. 55, No 1-2. P. 89-114. doi: 10.1016/0025-5564(81)90014-6
65. Harry J.D., Ward A.W., Heglund N.C., Morgan D.L., McMahon T.A. Cross-bridge cycling theories cannot explain high-speed lengthening behavior in frog muscle. *Biophys J*. 1990. Vol. 57, No 2. P. 201-8. doi: 10.1016/S0006-3495(90)82523-6
66. Lombardi V., Piazzesi G., Ferenczi M.A., Thirlwell H., Dobbie I., Irving M. Elastic distortion of myosin heads and repriming of the working stroke in muscle. *Nature*. 1995. Vol. 374, No 6522. P. 553-5. doi: 10.1038/374553a0
67. Lombardi V., Piazzesi G., Linari M. Rapid regeneration of the actin-myosin power stroke in contracting muscle. *Nature*. 1992. Vol. 355, No 6361. P. 638-41. doi: 10.1038/355638a0
68. Mansson A. The tension response to stretch of intact skeletal muscle fibres of the frog at varied tonicity of the extracellular medium. *J Muscle Res Cell Motil*. 1994. Vol. 15, No 2. P. 145-57.
69. Squire J.M., Knupp C., Luther P.K. Zebrafish-topical, transparent, and tractable for ultrastructural studies. *J Gen Physiol*. 2008. Vol. 131, No 5. P. 439-43. doi: 10.1085/jgp.200810015

70. Squire J.M., Al-Khayat H.A., Knupp C., Luther P.K. Molecular architecture in muscle contractile assemblies. *Adv Protein Chem.* 2005. Vol. 71. P. 17-87. doi: 10.1016/S0065-3233(04)71002-5
71. Iwamoto H., Inoue K., Yagi N. Evolution of long-range myofibrillar crystallinity in insect flight muscle as examined by X-ray cryomicrodiffraction. *Proc Biol Sci.* 2006. Vol. 273, No 1587. P. 677-85. doi: 10.1098/rspb.2005.3389
72. Iwamoto H. Structure, function and evolution of insect flight muscle. *Biophysics (Nagoya-shi)*. 2011. Vol. 7. P. 21-28. doi: 10.2142/biophysics.7.21
73. Squire J.M. General model of myosin filament structure. II. Myosin filaments and cross-bridge interactions in vertebrate striated and insect flight muscles. *J Mol Biol.* 1972. Vol. 72, No 1. P. 125-38.
74. Holmes K.C., Popp D., Gebhard W., Kabsch W. Atomic model of the actin filament. *Nature.* 1990. Vol. 347, No 6288. P. 44-9. doi: 10.1038/347044a0
75. Holmes K.C. A molecular model for muscle contraction. *Acta Crystallogr A.* 1998. Vol. 54, No Pt 6 Pt 1. P. 789-97.
76. Lorenz M., Popp D., Holmes K.C. Refinement of the F-actin model against X-ray fiber diffraction data by the use of a directed mutation algorithm. *J Mol Biol.* 1993. Vol. 234, No 3. P. 826-36. doi: 10.1006/jmbi.1993.1628
77. Holmes K.C., Angert I., Kull F.J., Jahn W., Schroder R.R. Electron cryo-microscopy shows how strong binding of myosin to actin releases nucleotide. *Nature.* 2003. Vol. 425, No 6956. P. 423-7. doi: 10.1038/nature02005
78. Luther P.K., Squire J.M. Three-dimensional structure of the vertebrate muscle A-band. II. The myosin filament superlattice. *J Mol Biol.* 1980. Vol. 141, No 4. P. 409-39. doi: 0022-2836(80)90254-5 [pii]
79. Squire J.M., Knupp C., Luther P.K. Zebrafish--topical, transparent, and tractable for ultrastructural studies. *J Gen Physiol.* 2008. Vol. 131, No 5. P. 439-43. doi: 10.1085/jgp.200810015
80. Piazzesi G., Lucii L., Lombardi V. The size and the speed of the working stroke of muscle myosin and its dependence on the force. *J Physiol.* 2002. Vol. 545, No Pt 1. P. 145-51. doi: 10.1113/jphysiol.2002.028969.

81. Nagornyak E.M., Blyakhman F.A., Pollack G.H. Stepwise Length Changes in Single Invertebrate Thick Filaments. *Biophysical Journal*. 2005. Vol. 89, No 5. P. 3269-3276. doi: 10.1529/biophysj.105.069864
82. Pollack G.H., Liu X., Yakovenko O., Blyakhman F.A. *Translation Step Size Measured in Single Sarcomeres and Single Filament Pairs*. Boston, MA: Springer US, 2003. P. 129-141.
83. Kawai M., Brandt P.W. Sinusoidal analysis: a high resolution method for correlating biochemical reactions with physiological processes in activated skeletal muscles of rabbit, frog and crayfish. *J Muscle Res Cell Motil*. 1980. Vol. 1, No 3. P. 279-303.
84. Palmer B.M., Suzuki T., Wang Y., Barnes W.D., Miller M.S., Maughan D.W. Two-state model of acto-myosin attachment-detachment predicts C-process of sinusoidal analysis. *Biophys J*. 2007. Vol. 93, No 3. P. 760-9. doi: 10.1529/biophysj.106.101626
85. Tanner B.C., Wang Y., Maughan D.W., Palmer B.M. Measuring myosin cross-bridge attachment time in activated muscle fibers using stochastic vs. sinusoidal length perturbation analysis. *J Appl Physiol*. 2011. Vol. 110, No 4. P. 1101-8. doi: 10.1152/jappphysiol.00800.2010
86. Huxley A.F., Simmons R.M. Mechanical properties of the cross-bridges of frog striated muscle. *J Physiol*. 1971. Vol. 218, No 1. P. 59P-60P.
87. Heintz P., Kuhn H.J., Ruegg J.C. Tension responses to quick length changes of glycerinated skeletal muscle fibres from the frog and tortoise. *J Physiol*. 1974. Vol. 237, No 2. P. 243-58.
88. Kawai M. The role of orthophosphate in crossbridge kinetics in chemically skinned rabbit psoas fibres as detected with sinusoidal and step length alterations. *J Muscle Res Cell Motil*. 1986. Vol. 7, No 5. P. 421-34.
89. Peckham M., Molloy J.E., Sparrow J.C., White D.C. Physiological properties of the dorsal longitudinal flight muscle and the tergal depressor of the trochanter muscle of *Drosophila melanogaster*. *J Muscle Res Cell Motil*. 1990. Vol. 11, No 3. P. 203-15.

90. Vigoreaux J.O. *Nature's versatile engine insect flight muscle inside and out: Molecular biology intelligence unit*. Georgetown, Tex. New York: Landes Bioscience/Eurekah.com, Springer Science+Business Media, 2006. 288 P.
91. Josephson R.K., Malamud J.G., Stokes D.R. Asynchronous muscle: a primer. *J Exp Biol*. 2000. Vol. 203, No Pt 18. P. 2713-22.
92. Iorga B., Wang L., Stehle R., Pfitzer G., Kawai M. ATP binding and cross-bridge detachment steps during full Ca(2)(+) activation: comparison of myofibril and muscle fibre mechanics by sinusoidal analysis. *J Physiol*. 2012. Vol. 590, No Pt 14. P. 3361-73. doi: 10.1113/jphysiol.2012.228379
93. Kawai M., Halvorson H.R. Role of MgATP and MgADP in the cross-bridge kinetics in chemically skinned rabbit psoas fibers. Study of a fast exponential process (C). *Biophys J*. 1989. Vol. 55, No 4. P. 595-603. doi: 10.1016/S0006-3495(89)82857-7
94. Kawai M., Halvorson H.R. Two step mechanism of phosphate release and the mechanism of force generation in chemically skinned fibers of rabbit psoas muscle. *Biophys J*. 1991. Vol. 59, No 2. P. 329-42. doi: 10.1016/S0006-3495(91)82227-5
95. Kawai M., Zhao Y. Cross-bridge scheme and force per cross-bridge state in skinned rabbit psoas muscle fibers. *Biophys J*. 1993. Vol. 65, No 2. P. 638-51. doi: 10.1016/S0006-3495(93)81109-3
96. Davis J.S., Rodgers M.E. Force generation and temperature-jump and length-jump tension transients in muscle fibers. *Biophys J*. 1995. Vol. 68, No 5. P. 2032-40. doi: 10.1016/S0006-3495(95)80380-2
97. Ranatunga K.W., Coupland M.E., Pinniger G.J., Roots H., Offer G.W. Force generation examined by laser temperature-jumps in shortening and lengthening mammalian (rabbit psoas) muscle fibres. *J Physiol*. 2007. Vol. 585, No Pt 1. P. 263-77. doi: 10.1113/jphysiol.2007.142208
98. Bershitsky S.Y., Tsaturyan A.K. Tension responses to joule temperature jump in skinned rabbit muscle fibres. *J Physiol*. 1992. Vol. 447. P. 425-48.

99. Palmer B.M., Wang Y., Miller M.S. Distribution of myosin attachment times predicted from viscoelastic mechanics of striated muscle. *J Biomed Biotechnol.* 2011. Vol. 2011. P. 592343. doi: 10.1155/2011/592343
100. Palmer B.M. A strain-dependency of Myosin off-rate must be sensitive to frequency to predict the B-process of sinusoidal analysis. *Adv Exp Med Biol.* 2010. Vol. 682. P. 57-75. doi: 10.1007/978-1-4419-6366-6_4
101. Thomas N., Thornhill R.A. Negative viscosity and nonlinear elasticity of muscle cross-bridges. *Chaos, Solitons & Fractals.* 1995. Vol. 5, No 3–4. P. 393-406. doi: 10.1016/0960-0779(93)e0031-6
102. Thomas N., Thornhill R.A. Stretch activation and nonlinear elasticity of muscle cross-bridges. *Biophys J.* 1996. Vol. 70, No 6. P. 2807-18. doi: 10.1016/S0006-3495(96)79850-8
103. Murase M., Tanaka H., Nishiyama K., Shimizu H. A three-state model for oscillation in muscle: sinusoidal analysis. *J Muscle Res Cell Motil.* 1986. Vol. 7, No 1. P. 2-10.
104. *MPICH2: High-performance and Widely Portable MPI.* [Электронный ресурс] [cited; Available from: <http://www.mcs.anl.gov/research/projects/mpich2/>].
105. Harada Y., Noguchi A., Kishino A., Yanagida T. Sliding movement of single actin filaments on one-headed myosin filaments. *Nature.* 1987. Vol. 326, No 6115. P. 805-8. doi: 10.1038/326805a0
106. Matsumoto M., Nishimura T. Mersenne twister: a 623-dimensionally equidistributed uniform pseudo-random number generator. *ACM Trans. Model. Comput. Simul.* 1998. Vol. 8, No 1. P. 3-30. doi: 10.1145/272991.272995
107. Munasinghe R. *Classical Control Systems: Design and Implementation.* Oxford, England: Alpha Science International, 2012
108. Little M.A., Steel B.C., Bai F., Sowa Y., Bilyard T., Mueller D.M., Berry R.M., Jones N.S. Steps and bumps: precision extraction of discrete states of molecular machines. *Biophys J.* 2011. Vol. 101, No 2. P. 477-85. doi: 10.1016/j.bpj.2011.05.070

109. Pek J., Wong A., Wong O. *Confidence Intervals for the Mean of Non-Normal Distribution: Transform or Not to Transform*, 2017. 405-421 P.
110. Martinez W.L., Martinez A.R. *Computational statistics handbook with MATLAB*: Chapman & Hall/CRC computer science and data analysis series. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2016. 731 P.
111. R Development Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2015
112. Hindmarsh A.C., Brown P.N., Grant K.E., Lee S.L., Serban R., Shumaker D.E., Woodward C.S. SUNDIALS: Suite of nonlinear and differential/algebraic equation solvers. *ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS)*. 2005. Vol. 31, No 3. P. 363-396. doi: 10.1145/1089014.1089020
113. Horchler A.D. *Matlab toolbox for the numerical solution of stochastic differential equations*. 2013 [cited; Available from: <https://github.com/horchler/SDETools>].
114. Shampine L.F. Solving Hyperbolic PDEs in MATLAB. *Applied Numerical Analysis & Computational Mathematics*. 2005. Vol. 2, No 3. P. 346-358. doi: 10.1002/anac.200510025
115. Tyska M.J., Dupuis D.E., Guilford W.H., Patlak J.B., Waller G.S., Trybus K.M., Warshaw D.M., Lowey S. Two heads of myosin are better than one for generating force and motion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999. Vol. 96, No 8. P. 4402-7.
116. Kad N.M., Rovner A.S., Fagnant P.M., Joel P.B., Kennedy G.G., Patlak J.B., Warshaw D.M., Trybus K.M. A mutant heterodimeric myosin with one inactive head generates maximal displacement. *J Cell Biol*. 2003. Vol. 162, No 3. P. 481-8. doi: 10.1083/jcb.200304023
117. Li X.D., Ikebe M. Two functional heads are required for full activation of smooth muscle myosin. *J Biol Chem*. 2003. Vol. 278, No 32. P. 29435-41. doi: 10.1074/jbc.M301784200
118. Rovner A.S., Fagnant P.M., Trybus K.M. The two heads of smooth muscle myosin are enzymatically independent but mechanically interactive. *J Biol Chem*. 2003. Vol. 278, No 29. P. 26938-45. doi: 10.1074/jbc.M303122200

119. Cordova N.J., Ermentrout B., Oster G.F. Dynamics of single-motor molecules: the thermal ratchet model. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992. Vol. 89, No 1. P. 339-43.
120. Беспалова С.В., Міщенко 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.
121. Беспалова С.В., Мищенко А.М. *Моделирование работы полусаркомера с учетом эластичности сократительных филаментов*. IV з'їзд Українського біофізичного товариства, Донецьк: ДонНУ, 19-21 грудня 2006. Донецьк, 2006. С. 381-382.
122. Мищенко А.М., Беспалова С.В. *Пространственно распределенная модель полусаркомера с эластичным актином и миозином: зависимость скорость – сила*. *Физика живого*. 2008. Vol. 16, No 2. P. 38-57.
123. Беспалова С.В., Міщенко 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. Piazzesi G., Reconditi M., Koubassova N., Decostre V., Linari M., Lucii L., Lombardi V. Temperature dependence of the force-generating process in single fibres from frog skeletal muscle. *J Physiol*. 2003. Vol. 549, No Pt 1. P. 93-106. doi: 10.1113/jphysiol.2002.038703
125. Granzier H.L., Burns D.H., Pollack G.H. Sarcomere length dependence of the force-velocity relation in single frog muscle fibers. *Biophys J*. 1989. Vol. 55, No 3. P. 499-507. doi: 10.1016/S0006-3495(89)82843-7
126. Crowder M.S., Cooke R. The effect of myosin sulphhydryl modification on the mechanics of fibre contraction. *J Muscle Res Cell Motil*. 1984. Vol. 5, No 2. P. 131-46.
127. Wakayama J., Yamada T. Contractility of single myofibrils of rabbit skeletal muscle studied at various MgATP concentrations. *Jpn J Physiol*. 2000. Vol. 50, No 5. P. 533-42.

128. Cooke R., Franks K., Luciani G.B., Pate E. The inhibition of rabbit skeletal muscle contraction by hydrogen ions and phosphate. *J Physiol*. 1988. Vol. 395. P. 77-97.
129. Mansson A., Rassier D., Tsiavaliaris G. Poorly understood aspects of striated muscle contraction. *Biomed Res Int*. 2015. Vol. 2015. P. 245154. doi: 10.1155/2015/245154
130. Piazzesi G., Lombardi V. A cross-bridge model that is able to explain mechanical and energetic properties of shortening muscle. *Biophys J*. 1995. Vol. 68, No 5. P. 1966-79. doi: 10.1016/S0006-3495(95)80374-7
131. Беспалова С.В., Мищенко А.М. *Изучение роли эластичности сократительных филаментов в молекулярном механизме работы мышечного саркомера*. Актуальные вопросы теоретической и прикладной физики и биофизики. «Физика. Биофизика – 2007»: материалы Третьей Всеукраинской науч.-техн. конф., Севастополь: СевНТУ, 23–28 квітня 2007. Севастополь, 2007. С. 87–88.
132. Беспалова С.В., Міщенко 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.
133. 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.
134. Міщенко А.М., Тарадіна Г.В. Роль структури саркомеру в синхронізації роботи поперечних містків: молекулярний механізм східчастих змін довжини. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2017. Vol. 76. P. 3-14. doi: 10.30970/vlubs.2017.76.01
135. Placais P.Y., Balland M., Guerin T., Joanny J.F., Martin P. Spontaneous oscillations of a minimal actomyosin system under elastic loading. *Phys Rev Lett*. 2009. Vol. 103, No 15. P. 158102. doi: 10.1103/PhysRevLett.103.158102

136. Suzuki M., Fujita H., Ishiwata S. A new muscle contractile system composed of a thick filament lattice and a single actin filament. *Biophys J.* 2005. Vol. 89, No 1. P. 321-8. doi: 10.1529/biophysj.104.054957
137. Suzuki M., Ishiwata S. Quasiperiodic distribution of rigor cross-bridges along a reconstituted thin filament in a skeletal myofibril. *Biophys J.* 2011. Vol. 101, No 11. P. 2740-8. doi: 10.1016/j.bpj.2011.10.040
138. Tregear R.T., Reedy M.C., Goldman Y.E., Taylor K.A., Winkler H., Franzini-Armstrong C., Sasaki H., Lucaveche C., Reedy M.K. Cross-bridge number, position, and angle in target zones of cryofixed isometrically active insect flight muscle. *Biophys J.* 2004. Vol. 86, No 5. P. 3009-19. doi: 10.1016/S0006-3495(04)74350-7
139. Steffen W., Smith D., Simmons R., Sleep J. Mapping the actin filament with myosin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001. Vol. 98, No 26. P. 14949-54. doi: 10.1073/pnas.261560698
140. Kitamura K., Tokunaga M., Iwane A.H., Yanagida T. A single myosin head moves along an actin filament with regular steps of 5.3 nanometres. *Nature.* 1999. Vol. 397, No 6715. P. 129-34. doi: 10.1038/16403
141. 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
142. 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. C. 104.
143. Machin K.E., Pringle J.W. The physiology of insect fibrillar muscle. III. The effect of sinusoidal changes of length on a beetle flight muscle. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1960. Vol. 152. P. 311-30.

144. Maughan D., Moore J., Vigoreaux J., Barnes B., Mulieri L.A. Work production and work absorption in muscle strips from vertebrate cardiac and insect flight muscle fibers. *Adv Exp Med Biol.* 1998. Vol. 453. P. 471-80.
145. Smith D.A., Geeves M.A. Strain-dependent cross-bridge cycle for muscle. *Biophys J.* 1995. Vol. 69, No 2. P. 524-37. doi: 10.1016/S0006-3495(95)79926-X
146. Siemankowski R.F., Wiseman M.O., White H.D. ADP dissociation from actomyosin subfragment 1 is sufficiently slow to limit the unloaded shortening velocity in vertebrate muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985. Vol. 82, No 3. P. 658-62.
147. Veigel C., Molloy J.E., Schmitz S., Kendrick-Jones J. Load-dependent kinetics of force production by smooth muscle myosin measured with optical tweezers. *Nat Cell Biol.* 2003. Vol. 5, No 11. P. 980-6. doi: 10.1038/ncb1060
148. Nyitrai M., Geeves M.A. Adenosine diphosphate and strain sensitivity in myosin motors. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2004. Vol. 359, No 1452. P. 1867-77. doi: 10.1098/rstb.2004.1560
149. Potma E.J., Stienen G.J., Barends J.P., Elzinga G. Myofibrillar ATPase activity and mechanical performance of skinned fibres from rabbit psoas muscle. *J Physiol.* 1994. Vol. 474, No 2. P. 303-17.
150. Potma E.J., van Graas I.A., Stienen G.J. Influence of inorganic phosphate and pH on ATP utilization in fast and slow skeletal muscle fibers. *Biophys J.* 1995. Vol. 69, No 6. P. 2580-9. doi: 10.1016/S0006-3495(95)80129-3
151. Dantzig J.A., Goldman Y.E., Millar N.C., Laktis J., Homsher E. Reversal of the cross-bridge force-generating transition by photogeneration of phosphate in rabbit psoas muscle fibres. *J Physiol.* 1992. Vol. 451. P. 247-78.
152. Pate E., Cooke R. A model of crossbridge action: the effects of ATP, ADP and Pi. *J Muscle Res Cell Motil.* 1989. Vol. 10, No 3. P. 181-96.
153. Molloy J.E., Burns J.E., Kendrick-Jones J., Tregear R.T., White D.C. Movement and force produced by a single myosin head. *Nature.* 1995. Vol. 378, No 6553. P. 209-12. doi: 10.1038/378209a0

154. Capitanio M., Canepari M., Cacciafesta P., Lombardi V., Cicchi R., Maffei M., Pavone F.S., Bottinelli R. Two independent mechanical events in the interaction cycle of skeletal muscle myosin with actin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006. Vol. 103, No 1. P. 87-92. doi: 10.1073/pnas.0506830102
155. Veigel C., Bartoo M.L., White D.C., Sparrow J.C., Molloy J.E. The stiffness of rabbit skeletal actomyosin cross-bridges determined with an optical tweezers transducer. *Biophys J*. 1998. Vol. 75, No 3. P. 1424-38. doi: 10.1016/S0006-3495(98)74061-5
156. Mehta A.D., Finer J.T., Spudich J.A. Detection of single-molecule interactions using correlated thermal diffusion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997. Vol. 94, No 15. P. 7927-31.
157. Finer J.T., Simmons R.M., Spudich J.A. Single myosin molecule mechanics: piconewton forces and nanometre steps. *Nature*. 1994. Vol. 368, No 6467. P. 113-9. doi: 10.1038/368113a0
158. Reconditi M., Linari M., Lucii L., Stewart A., Sun Y.B., Boesecke P., Narayanan T., Fischetti R.F., Irving T., Piazzesi G., Irving M., Lombardi V. The myosin motor in muscle generates a smaller and slower working stroke at higher load. *Nature*. 2004. Vol. 428, No 6982. P. 578-81. doi: 10.1038/nature02380
159. Takagi Y., Homsher E.E., Goldman Y.E., Shuman H. Force generation in single conventional actomyosin complexes under high dynamic load. *Biophys J*. 2006. Vol. 90, No 4. P. 1295-307. doi: 10.1529/biophysj.105.068429
160. Kaya M., Higuchi H. Nonlinear elasticity and an 8-nm working stroke of single myosin molecules in myofilaments. *Science*. 2010. Vol. 329, No 5992. P. 686-9. doi: 10.1126/science.1191484
161. Cuminetti R., Rossmannith G. Small amplitude non-linearities in the mechanical response of an asynchronous flight muscle. *J Muscle Res Cell Motil*. 1980. Vol. 1, No 3. P. 345-56.
162. Мищенко А.М., Беспалова С.В. Моделирование частотных характеристик мышцы с использованием непрерывной пространственно распределенной

- моделі. *Проблеми екології та охорони природи техногенного регіону*. 2011. Vol. 11, No 1. P. 310-322.
163. 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. No 1. P. 183-191.
164. Міщенко 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.
165. Edman K.A., Mansson A., Caputo C. The biphasic force-velocity relationship in frog muscle fibres and its evaluation in terms of cross-bridge function. *J Physiol*. 1997. Vol. 503 (Pt 1). P. 141-56.

ДОДАТКИ

Додаток А Просторово розподілена стохастична модель півсаркомеру що враховує еластичність скорочувальних філаментів

А.1. Симуляція змін механохімічного стану півсаркомеру в стохастичній моделі

Стан півсаркомеру в стохастичній моделі включає механічну та хімічну складову. Механічна включає положення всіх намистинок товстого та тонкого філаментів та положення намистинки, що відповідає Z-мембрані. Хімічна складова включає хімічний стан кожного з поперечних містків. Механічний стан поперечних містків (деформація еластичного елемента) визначається положенням намистинок скорочувальних філаментів, з якими є зв'язаним даний місток та його хімічним станом.

Зміни механічного стану системи відбуваються внаслідок хімічних переходів поперечних містків, що сполучені зі змінами його конформації або відривами/зв'язуваннями, а також зі змінами положення Z-мембрани або сили, яка на неї діє. Ці зміни описуються системою алгебраїчних рівнянь, що описують миттєвий баланс сил N поперечних містків та M зв'язувальних центрів:

$$\mathbf{KZ} = -\mathbf{F} \quad (\text{A.1})$$

де \mathbf{K} – матриця констант жорсткості; \mathbf{Z} – вектор зсувів бусинок на міозині й актині; \mathbf{F} – вектор граничних умов.

Елементи вектору F мають вигляд:

$$\begin{aligned} F_1 &= k_{mn} [y_2(0) - y_2(t) - 2(y_1(0) - y_1(t))] \\ F_i &= k_{mn} [y_{i+1}(0) - y_{i+1}(t) + y_{i-1}(0) - y_{i-1}(t) - 2(y_i(0) - y_i(t))] \quad i = 2 \dots N - 1 \\ F_N &= k_{mn} [y_{N-1}(0) - y_{N-1}(t) - (y_N(0) - y_N(t))] \\ F_{N+1} &= k_{an} [x_2(0) - x_2(t) - (x_1(0) - x_1(t))] \\ F_j &= k_{an} [y_{j+1}(0) - y_{j+1}(t) + y_{j-1}(0) - y_{j-1}(t) - 2(y_j(0) - y_j(t))] \quad j = N + 2 \dots N + M - 1 \\ F_{N+M} &= k_{an} [y_{M-1}(0) - y_{M-1}(t) - (y_M(0) - y_M(t))] + F_{ext} \end{aligned} \quad (\text{A.2})$$

Якщо з j -м зв'язувальним центром зв'язаний i -й поперечний місток в n -у хімічному стані, то до елементів F_i і F_{N+j} необхідно додати силу F_{cb}^n , що буде створювати цей поперечний місток:

$$\begin{aligned} F_i &= F_i + F_{cb}^n \\ F_{N+j} &= F_{N+j} - F_{cb}^n \end{aligned} \quad (\text{A.3})$$

Відмінні від нуля елементи матриці K мають вигляд:

$$\begin{aligned} K_{1,1} &= -2k_{mn} & K_{1,2} &= k_{mn} \\ K_{i,i-1} &= K_{i,i+1} = k_{mn} & K_{i,i} &= -2k_{mn} \quad i = 2 \dots N-1 \\ K_{N,N-1} &= k_{mn} & K_{N,N} &= -k_{mn} \\ K_{N+2,N+2} &= k_{an} & K_{N+1,N+1} &= -k_{an} \\ K_{N+j-1,N+j-1} &= K_{N+j+1,N+j+1} = k_{an} & K_{N+j,N+j} &= -2k_{an} \quad j = N+2 \dots N+M-1 \\ K_{N+M-1,N+M-1} &= k_{an} & K_{N+M,N+M} &= k_{an} \end{aligned} \quad (\text{A.4})$$

Після розв'язку системи (A.1) нове рівноважне положення бусинок на актині й міозині мають вигляд:

$$\begin{aligned} y_i(t + \Delta t) &= y_i(t) + Z_i \quad i = 1, \dots, N \\ x_j(t + \Delta t) &= x_j(t) + Z_{N+j} \quad j = 1, \dots, M \end{aligned} \quad (\text{A.5})$$

Жорсткі скорочувальні філаменти. У випадку абсолютно жорстких скорочувальних філаментів модель значно спрощується. Зв'язані поперечні містки розташовані паралельно, тому жорсткість півсаркомеру визначається їхньою сумарною жорсткістю:

$$K_{hs} = N_b k_{cb} \quad (\text{A.6})$$

де N_b - кількість зв'язаних поперечних містків. Деформація такого півсаркомеру, дорівнює середній деформації еластичних елементів зв'язаних поперечних містків:

$$\varepsilon_{hs} = \frac{\sum_i^{N_b} \varepsilon_i}{N_b} \quad (\text{A.7})$$

Його сила F_{hs} визначається сумарною силою, що створюється всіма зв'язаними поперечними містками:

$$F_{hs} = -k_{cb} \sum_i^{N_b} \varepsilon_i \quad (\text{A.8})$$

Намистинки товстого філаменту не міняють положення. Намистинки тонкого зміщуються на однакову величину, після хімічного переходу котрогось з містків величина зсуву буде дорівнювати:

$$\Delta y = \frac{F_{hs}^* + F_{ext}}{K_{hs}} (1 - \exp[-K_{hs} \delta t / \beta]) \quad (\text{A.9})$$

де β - коефіцієнт тертя тонкого філаменту разом із зв'язаними з ним поперечними містками, F_{hs}^* - миттєва сила півсаркомеру після хімічного переходу. Для малих β маємо:

$$\Delta y = \frac{F_{hs}^* + F_{ext}}{K_{hs}} \quad (\text{A.10})$$

Зміни в часі хімічної складової стану півсаркомеру симулювались за допомогою методу Монте-Карло. Алгоритм, за допомогою якого визначаються зміни стану через проміжки часу δt , виглядає наступним чином:

1. Передбачається, що в початковий момент часу ($t=0$) усі містки вільні, їх положення в просторі визначаються з співвідношень (3.1).
2. Формуються матриця \mathbf{K} та вектор \mathbf{F} системи (A.1). Розв'язавши систему алгебраїчних рівнянь (A.1), знаходимо вектор зсувів \mathbf{Z} . З рівнянь (A.5) знаходимо нові положення поперечних містків та зв'язувальних центрів у момент часу $t + \delta t$
3. Знаючи нові положення містків та зв'язувальних центрів, визначаємо можливі хімічні переходи містків за час δt :
 - а. Якщо i -й місток вільний, знаходимо ймовірність його зв'язування P_{12} за час δt . Для цього визначаємо відстані до найближчих до нього ліворуч і праворуч зв'язувальних центрів на актині – Δ_{ij} та Δ_{ij+1} відповідно. Обчислюємо ймовірності зв'язування з лівим $P_{12}(\Delta_{ij}) = \delta t \cdot R_{12}(\Delta_{ij})$ та з правим $P_{12}(\Delta_{ij+1}) = \delta t \cdot R_{12}(\Delta_{ij+1})$ зв'язувальними центрами. З ймовірностей $P_{12}(\Delta_{ij})$ та $P_{12}(\Delta_{ij+1})$ обираємо найбільшу.

- б. Якщо i -й місток є зв'язаним з j -м зв'язувальним центром, у стані n , знаючи відстань Δ_{ij} , обчислюємо ймовірності всіх можливих переходів $n \rightarrow m$ за час δt : $P_{nm}(\Delta_{ij}) = \delta t \cdot R_{nm}(\Delta_{ij})$.
- в. Знаючи для i -го містка ймовірності переходів $P_{nm}(\Delta_{ij})$, а так само ймовірність того, що його стан не зміниться $1 - \sum_m P_{nm}(\Delta_{ij})$, та використовуючи процедуру перетворення ймовірностей, визначаємо, чи відбулися за час δt зміни стану містка, або ж він залишився у первісному стані.
4. Знаючи положення та стани містків та зв'язувальних центрів у момент часу $t + \delta t$, переходимо до пункту 2, нарощуючи при цьому поточний час на δt ($t = t + \delta t$). Повторюємо цю процедуру доти, доки час t не досягне кінцевого часу експерименту t_{end} .

А.2. Кількість та деформації зв'язаних поперечних містків, хімічні потоки

Кількість та деформації зв'язаних поперечних містків. Для поперечних містків у стані k обчислювалася емпірична щільність розподілу $f(\varepsilon^{(k)})$ деформацій $\varepsilon^{(k)}$ їх еластичного елемента та частка поперечних містків $n^{(k)}$ у цьому стані. Для обчислення емпіричної щільності розподілу $f(\varepsilon^{(k)})$, діапазон можливих значень деформацій $\varepsilon^{(k)}$ розбивався на підінтервали $\Delta\varepsilon$ рівної довжини, та на протязі всієї симуляції розраховувалося число влучань l_i деформацій містків, в k -му хімічному стані, у кожний з підінтервалів. Щільність розподілу обчислювалася за формулою:

$$f(\varepsilon^{(k)}) = \frac{l_i}{\Delta\varepsilon \sum_j l_j}, \quad \varepsilon^{(k)} \in (i\Delta\varepsilon, (i+1)\Delta\varepsilon] \quad (1.11)$$

Частка поперечних містків, що перебувають в k -ому хімічному стані буде складати:

$$n^{(k)} = \sum_i f(i\Delta\varepsilon)\Delta\varepsilon \quad (1.12)$$

Емпірична щільність розподілу поперечних містків у стані k по деформаціях еластичного елемента:

$$g(\varepsilon^{(k)}) = f(\varepsilon^{(k)})n^{(k)} \quad (1.13)$$

Так само розраховувалися середня деформація $\varepsilon^{(k)}$ містків у різних хімічних станах:

$$\begin{aligned} \bar{\varepsilon}^{(k)} &= \frac{\sum_i \varepsilon_i^{(k)} f_i(\varepsilon_i^{(k)}) \Delta \varepsilon}{n^{(k)}} - d \quad k=2 \\ \bar{\varepsilon}^{(k)} &= \frac{\sum_i \varepsilon_i^{(k)} f_i(\varepsilon_i^{(k)}) \Delta \varepsilon}{n^{(k)}} \quad k=3,4 \end{aligned} \quad (1.14)$$

Деформація $\varepsilon^{(k)}$ – це деформація поперечних містків у стані механічної рівноваги, системи півсаркомер, зовнішнє навантаження. Тобто, це та деформація, яку мають поперечні містки протягом, головним чином, усього часу роботи півсаркомеру.

Хімічні потоки. Обчислювалися розподіли потоків хімічних переходів $k \rightarrow m$ по деформації містка в стані k . Для цього діапазон можливих значень деформацій ε_k розбивався на підінтервали $\Delta \varepsilon$ рівної довжини, та для кожного з можливих переходів $k \rightarrow m$ обчислювалася частота влучань l_i в i -й підінтервал після переходу $k \rightarrow m$ кожного з містків за час δt . Обчислювалися ефективні константи швидкості для переходу $k \rightarrow m$ (сумування в знаменнику ведеться по всім можливим s , у тому числі й для $s = k$):

$$\tilde{r}_i^{(km)}(\varepsilon^{(k)}) = \frac{l_i^{(km)}}{\delta t \sum_s l_i^{(ks)}}, \quad \varepsilon^{(k)} \in (i\Delta \varepsilon, (i+1)\Delta \varepsilon] \quad (1.15)$$

Розподіл щільності потоку $J_i^{(km)}(\varepsilon^{(k)})$ обчислювався по формулі:

$$J_i^{(km)}(\varepsilon^{(k)}) = Nn^{(k)} f_i^{(k)}(\varepsilon^{(k)}) \tilde{r}_i^{(km)}(\varepsilon^{(k)}) \quad (1.16)$$

Площа під кривою розподілу:

$$J^{(km)} = Nn^{(k)} \sum_i f_i^{(k)}(\varepsilon^{(k)}) \tilde{r}_i^{(km)}(\varepsilon^{(k)}) \Delta \varepsilon$$

Так само обчислювалася залежність потоку $J^{(km)}(i)$ від номера містка i . Для кожного з містків підраховувалася кількість $l_{ks}(i)$ переходів $k \rightarrow s$, що здійснювалася ними на кожному кроці інтегрування. Потім обчислювалися ефективні константи швидкості $\tilde{r}^{(km)}(i)$ для переходу $k \rightarrow m$ (сумування в знаменнику ведеться по всім можливим s , у тому числі й для $s=k$):

$$\tilde{r}^{(km)}(i) = \frac{l^{(km)}(i)}{\delta t \sum_s l^{(ks)}(i)} \quad (1.17)$$

Потік $J^{(km)}(i)$:

$$J^{(km)}(i) = Nn^{(k)} \tilde{r}^{(km)}(i) \quad (1.18)$$

А.3. Ідентифікація великомасштабних сходинок в траєкторії переміщення Z-мембрани

При ізотонічному скороченні, при навантаженнях, близьких до ізометричного, в траєкторії переміщення Z-мембрани спостерігаються великомасштабні сходинки, які утворюються з елементарних сходинок, що викликаються механохімічними переходами окремих поперечних містків. Ідентифікація цих великомасштабних сходинок здійснювалася з використанням вейвлет аналізу. Розроблений алгоритм ідентифікації складався з наступних етапів:

1. Траєкторія y_i піддавалась багаторівневному дискретному вейвлет перетворенню.
2. Для набору деталізуючих коефіцієнтів рівня n розраховували порогове значення thr з використанням критерію незміщеної оцінки ризику Штайна. Отримане в такий спосіб значення додатково множилося на певний множник: $thr = thr \cdot C$
3. Знаходимо номери i_n деталізуючих коефіцієнтів рівня n , абсолютні значення яких перевищували порогове значення thr .
4. Для кожного коефіцієнта, знайденого на кроці 3, беруться відповідні йому 4 коефіцієнта на рівні $n-2$ (номер першого з них $4i_n-3$) та з них вибирається максимальний по модулю.
5. З номерів i_{n2} максимальних коефіцієнтів, отриманих на кроці 4, розраховувалися номери i_x перших точок з наборів, відповідних до цих коефіцієнтів у вихідному сигналі ($i_x = 1 + (i_{n2} - 1)2^{n-2}$).
6. З траєкторії переміщення Z-мембрани відкидалися всі точки, за винятком точок з номерами i_x , в результаті чого одержуємо сигнал y'_i

7. Точки в сигналі y'_i , які розташовані послідовно та для яких відстань між сусідніми точками по осі ординат менше певного порогового значення y_{thr} , замінювалися на їх середнє.

А.4. Симуляція ізокінетичного розтягування

В симуляції експерименту по ізокінетичному розтягуванню півсаркомеру для контролю швидкості розтягування півсаркомеру використовувався цифровий регулятор. Схема обраної нами цифрової системи керування показана на рис .А.1.а. В якості регулятора ми використовували ПІ-регулятор (пропорційно-інтегральний або ізодромний регулятор), рис .А.1.б. З одного боку, він має переваги перед пропорційним регулятором, з другого боку, на відміну від ПІД-регулятора (пропорційно інтегродиференційний), його можна використати при наявності значного рівня шуму.

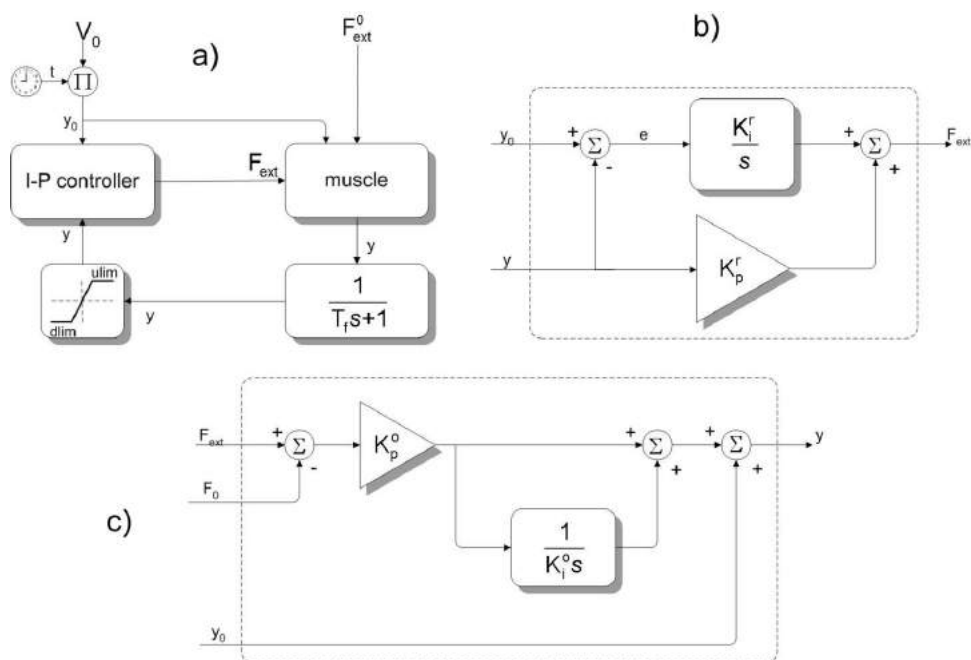


Рис. А.1. Структурна схема системи керування і її окремих ланок: а) система керування положенням актинового філаменту; б) структура ПІ-регулятора; в) структура моделі півсаркомеру.

Вихідний сигнал від віртуального півсаркомеру (положення Z -мембрани, $x_z(t)$) через фільтр надходить на перший вхід ПІ-регулятора. На другий вхід регулятора надходить задана траєкторія Z -мембрани. Залежно від величини

відхилення траєкторії Z-мембрани від заданої, регулятор міняє вхідний сигнал півсаркомеру, тобто зовнішнє навантаження $F_{ext}(t)$.

Оскільки вихідний сигнал півсаркомеру є сильно зашумленим, перед подачею на регулятор він фільтрувався. У якості фільтра використовувалася інерційна ланка з коефіцієнтом підсилення T_f

$$W(s) = \frac{1}{T_f s + 1} \quad (\text{A.19})$$

Частота зрізу такого фільтра дорівнює $1/T_f$.

ПІ-регулятор комбінує переваги П- та І-регуляторів (стабільність і швидкість першого й відсутність статичної помилки другого). Структура ПІ-регулятора показана на рис .А.1.б). В обраній структурі заданий сигнал надходить тільки на І-компоненту регулятора, на його П-компоненту поступає тільки вихідний сигнал від півсаркомеру (І-П структура регулятора). Така структура ПІ-регулятора дозволяє уникнути передачі розривів у заданому сигналі на контролюючий сигнал.

Рівняння такого ПІ-регулятора має вигляд:

$$F_{ext}(t) = -K_p^{PI} x(t) + K_i^{PI} \int e(t) dt \quad (\text{A.20})$$

де $e = x^{ref} - x$ – помилка регулювання, x^{ref} – задана траєкторія Z-мембрани. У цифровій реалізації ПІ-регулятора використовувалася наступна дискретна апроксимація рівняння (А.20):

$$F_{ext}(k) = F_{ext}(k-1) - K_p^{PI} [x(k) - x(k-1)] + K_i^{PI} T_k e(k) \quad (\text{A.21})$$

де T_k - час квантування, $k = 1, 2, 3, \dots$ - номер періоду квантування ($t = T_k k$).

Амплітуда контролюючого сигналу ПІ-регулятора обмежувалася діапазоном від $ulim$ до $dlim$. Якщо вихідний сигнал перевищує значення $ulim$ або його значення менше $dlim$, то йому присвоюється значення $ulim$ або $dlim$ відповідно (рис .А.1.а).

Ми здійснювали ідентифікацію об'єкту керування, визначивши його частотні характеристики. Ідентифікація здійснювалася для декількох опорних значень зовнішнього навантаження (ізометричного та декількох значень F_{ext} , при який

півсаркомер розтягувався). Півсаркомер має частотні характеристики, що відповідають ізодромній ланці (елемент Максвелла), рис .А.1.с.

Для досягнення необхідної якості регулювання були підібрані параметри ПІ-регулятора. Параметри ПІ-регулятора, що використовувалися в чисельному експерименті, наведено в таблиці А.1.

Таблиця А.1

Параметри ПІ-регулятора

Жорсткість філаментів	Задане значення швидкості ковзання , мкм/с	K_p^{PI}	K_i^{PI}	dlim	ulim
∞ k_{an}, k_{mn}	1-2	19	19777	0	500
∞ k_{an}, k_{mn}	0	16	16170	0	500
$k_{an} / 10, k_{mn} / 10$	0-2	6.5	6391		

Додаток В Природа в'язкопружних властивостей активного м'язового волокна

В.1. Модель

Залежність констант швидкостей від деформації поперечного містка.

Припускалося, що для деяких етапів механохімічного циклу поперечних містків, швидкості хімічних переходів залежать від деформації еластичного елемента поперечного містка. Кінетичні дослідження на м'язових волокнах або в розчині дають значення констант швидкостей при нульовій деформації. Функціональна ж залежність констант швидкостей від деформації невідома. Є непрямі експериментальні підтвердження наявності такої залежності або теоретичні припущення, що ґрунтуються на структурних даних, а також на моделюванні макроскопічних закономірностей роботи м'яза.

В багатьох моделях [9, 41, 130, 152, 165] припускається, що швидкість прямих переходів між зв'язаними станами збільшується при зменшенні деформації поперечного містка. Такі припущення обґрунтовуються структурними моделями [145], а також експериментальним даним [146-148]. Математично таку залежність виражають, використовуючи експоненційні, кусочно лінійні та нелінійні функції.

Імовірність зв'язування вільного поперечного містка залежить від амплітуди його теплових флуктуацій. Вважаючи еластичний елемент поперечного містка лінійним, залежність константи швидкості зв'язування від відстані між рівноважним положенням вільної міозинової голівки та зв'язувальним центром на актині, зазвичай описують, використовуючи Гаусову функцію [9, 22, 152, 165]. Її ширина буде залежати від температури та жорсткості еластичного елемента поперечного містка.

Нами використовувались декілька альтернативних наборів залежностей констант швидкості механохімічних переходів k_{ij} від деформації еластичного елемента поперечного містка ξ_i . У **наборі 1** константи швидкостей для прямих переходів обиралися наступним чином:

$$k_{12}(\xi_1) = \begin{cases} a_{12}^{(1)} \exp\left(-\frac{a_{12}^{(2)} k_{cb}}{RT} \xi_1^2\right), & |\xi_1| \leq l_{bs} \\ 0, & |\xi_1| > l_{bs} \end{cases} \quad (\text{B.1})$$

$$k_{ij}(\xi_i) = a_{ij}^{(1)} \exp\left(-\frac{a_{ij}^{(2)} k_{cb}}{RT} \xi_i\right), \quad i = 2, 3, 4 \quad (\text{B.2})$$

Як функції відстані x від рівноважного положення головки поперечного містка в вільному стані до зв'язувального центру на актині, ці вирази переписуться наступним чином:

$$k_{12}(x) = \begin{cases} a_{12}^{(1)} \exp\left(-\frac{a_{12}^{(2)} k_{cb}}{RT} x^2\right), & |x| \leq l_{bs} \\ 0, & |x| > l_{bs} \end{cases} \quad (\text{B.3})$$

$$k_{ij}(x) = a_{ij}^{(1)} \exp\left(-\frac{a_{ij}^{(2)} k_{cb}}{RT} \left[x + \sum_{k=1}^{i-1} d_k\right]\right), \quad (i, j) = (2, 3), (3, 4), (4, 1) \quad (\text{B.4})$$

Набори 2 та 3 відрізнялись від набору 1 тільки константою швидкості $k_{41}(\xi_4)$.

У наборі 2 вона має вигляд:

$$k_{41}(\xi_4) = \begin{cases} a_{41}^{(1)} \exp\left(-\frac{a_{41}^{(2)} k_{cb}}{RT} \left[\xi_4 - \sum_{k=1}^3 d_k\right]\right), & \xi_4 \geq \sum_{k=1}^3 d_k \\ a_{41}^{(1)} \exp\left(-\frac{a_{41}^{(3)} k_{cb}}{RT} \left[\xi_4 - \sum_{k=1}^3 d_k\right]\right), & \xi_4 < \sum_{k=1}^3 d_k \end{cases} \quad (\text{B.5})$$

Як функція відстані x , цей вираз запишеться так:

$$k_{41}(x) = \begin{cases} a_{41}^{(1)} \exp\left(-\frac{a_{41}^{(2)} k_{cb}}{RT} x\right), & x \geq 0 \\ a_{41}^{(1)} \exp\left(-\frac{a_{41}^{(3)} k_{cb}}{RT} x\right), & x < 0 \end{cases} \quad (\text{B.6})$$

У наборі 3 $k_{41}(\xi_4)$ має вигляд:

$$k_{41}(\xi_4) = \begin{cases} a_{41}^{(2)} & \xi_4 \leq a_{41}^{(4)} + \sum_{k=1}^3 d_k \\ a_{41}^{(1)} & a_{41}^{(4)} + \sum_{k=1}^3 d_k < \xi_4 \leq a_{41}^{(5)} + \sum_{k=1}^3 d_k \\ a_{41}^{(3)} & \xi_4 > a_{41}^{(5)} + \sum_{k=1}^3 d_k \end{cases} \quad (\text{B.7})$$

Як функція відстані x , цей вираз запишеться так:

$$k_{41}(x) = \begin{cases} a_{41}^{(2)} & x \leq a_{41}^{(4)} \\ a_{41}^{(1)} & a_{41}^{(4)} < x \leq a_{41}^{(5)} \\ a_{41}^{(3)} & x > a_{41}^{(5)} \end{cases} \quad (\text{B.8})$$

Константи швидкостей зворотних переходів отримувались із прямих на основі принципу детальної рівноваги. Якщо припустити, що еластичний елемент поперечного містка є лінійним, хімічний стан i буде характеризуватися вільною енергією:

$$G_i(\xi_i) = \begin{cases} 0 & i = 1 \\ \frac{k_{cb}}{2} \xi_i^2 + G_i^0 & i = 2, 3, 4 \end{cases} \quad (\text{B.9})$$

Для розглянутих вище наборів, знаючи константу швидкості прямого переходу k_{ij} , константа швидкості зворотного переходу визначається як:

$$k_{ji}(\xi_i) = k_{ij}(\xi_j) \exp[G_j(\xi_j) - G_i(\xi_i)] \quad (\text{B.10})$$

У **наборі 4** константи швидкостей для прямих переходів обиралися у такий же спосіб, як і в наборі 1, але припускалося, що жорсткість поперечного містка є нелінійною. У цьому наборі жорсткість поперечного містка є функцією деформації $k_{cb}(\xi_i)$:

$$k_{cb}(\xi_i) = \begin{cases} 1.5 & \xi_i > 0 \\ 0.1 & \xi_i < 0 \end{cases} \quad (\text{B.11})$$

$$k_{cb}(\xi_i) = \begin{cases} 1.5 & \xi_i > 0 \\ 0.1 & \xi_i < 0 \end{cases} \quad (\text{B.12})$$

де значення жорсткості наведені в пн/нм.

Крім розглянутих наборів 1-4, використовувалися ще 4 набори констант швидкостей – **набори 1(r) - 4(r)** відповідно. Ці набори відрізнялись від наборів 1-4 тільки припущенням про те, що місток може зв'язуватися тільки з найближчим зв'язувальним центром праворуч від нього. Константа швидкості відриву слабозв'язаних поперечних містків, що мають $\xi_2 < 0$, обчислювалася згідно (В.10), де в якості "прямої" константи швидкості обиралась $k_{12}(\xi_1 < 0)$ з відповідного набору 1-4.

Константи швидкостей механохімічних переходів. Значення констант швидкості $k_{ij}(\xi_i)$ та вільної енергії $G_i(\xi_i)$ при нульовій деформації обирались на основі експериментальних даних з робіт [7, 149-152]. Ці данні узагальнені в таблиці В.1.

Шестистадійний цикл [7] в таблиці В.1 був замінений на ефективний трьохстадійний. Стани 5 та 6 циклу в [7] об'єднувались в один, при цьому константи швидкості k_{-4} та k_6 замінювались на ефективні k'_{-4} та k'_6 :

$$k'_{-4} = k_{-4} \frac{K_5[P_i]}{1 + K_5[P_i]} \quad (\text{В.13})$$

$$k'_6 = k_6 \frac{1}{1 + K_5[P_i]} \quad (\text{В.14})$$

Рівняння (В.13) та (В.14) отримувались розв'язанням системи рівнянь $X_{56} = X_5 + X_6$, $K_5[P_i] = X_5 / X_6$, де X_i – концентрація актоміозинового комплексу в стані i . При розрахунках приймалися $[T] = 5.1$ ммоль, $[P_i] = 8$ ммоль, $[D] = 0.03$ ммоль. Стани 0, 1 та 2 також об'єднувались в один, при цьому константи швидкості k_{-6} та k_2 замінювались на ефективні k'_{-6} та k'_2 :

$$k'_{-6} = k_{-6} \frac{K_0[D]}{K_0[D] + K_1[T] + 1} \quad (\text{В.15})$$

$$k'_2 = k_2 \frac{K_1[T]}{K_0[D] + K_1[T] + 1} \quad (\text{В.16})$$

Таблиця В.1

Значення кінетичних констант різних етапів механохімічного циклу поперечних містків. В стовбці «стан», через F, W та S позначено вільний, слабозв'язаний та сильнозв'язаний стани відповідно.

i	стан	стан	k_{ij}, c^{-1}	k_{ji}, c^{-1}	$\Delta G_{ij}, RT$
[149]					
1	F	$M \cdot D \cdot P_i$	80	32	-0.92
2	W	$AM \cdot D \cdot P_i$	17		
3	S	$AM \cdot D$	2.8		
[150]					
1	F	$M \cdot D \cdot P_i$	75	64	-0.16
2	W	$AM \cdot D \cdot P_i$	15	0.72	-3
3	S	$AM \cdot D$	2.8		
[151]					
1	F W	$M \cdot D \cdot P_i$ $AM \cdot D \cdot P_i$	79.2	114.7	0.37
2	S	$AM^* \cdot D \cdot P_i$	17		
3	S	$AM^* \cdot D$	2.8		
[7]					
1	F W	$M \cdot T$ $M \cdot D \cdot P_i$ $AM \cdot T$ $AM \cdot D \cdot P_i$	56	46	-0.2
2	S	$AM^* \cdot D \cdot P_i$ $AM^* \cdot D$	11	0.0035	-8.1
3	S	$AM \cdot D$ AM $AM^* \cdot T$	382	100	-1.34
[152]					
1	F	$M \cdot T$ $M \cdot D \cdot P_i$ $AM \cdot T$	100		-4.3
2	W	$AM \cdot D \cdot P_i$	50	2.8	-14.4
3	S	$AM^* \cdot D$	10-50	1.2-6.1	-2.1
4	S	AM $AM^* \cdot T$	$>10^3$	>111	-2.2

Ці рівняння отримувались розв'язанням системи рівнянь: $X_{012} = X_0 + X_1 + X_2$,

$K_0[D] = X_0 / X_1$, $K_1[T] = X_2 / X_1$.

Дані таблиці В.1 використовувались для формування початкових значень та діапазонів варіювання відповідних параметрів при оптимізації. Формувалось декілька альтернативних наборів. Частина з них включала слабозв'язаний стан ($d_1 \neq 0$), в іншій він об'єднувався з вільним ($d_1 = 0$).

Механічні параметри поперечних містків. Діапазони варіювання значень жорсткості еластичного елемента поперечного містка та величини його робочого ходу обирались на основі існуючих експериментальних даних, Рис. В.1. Використані діапазони варіювання наведені в таблиці В.2.

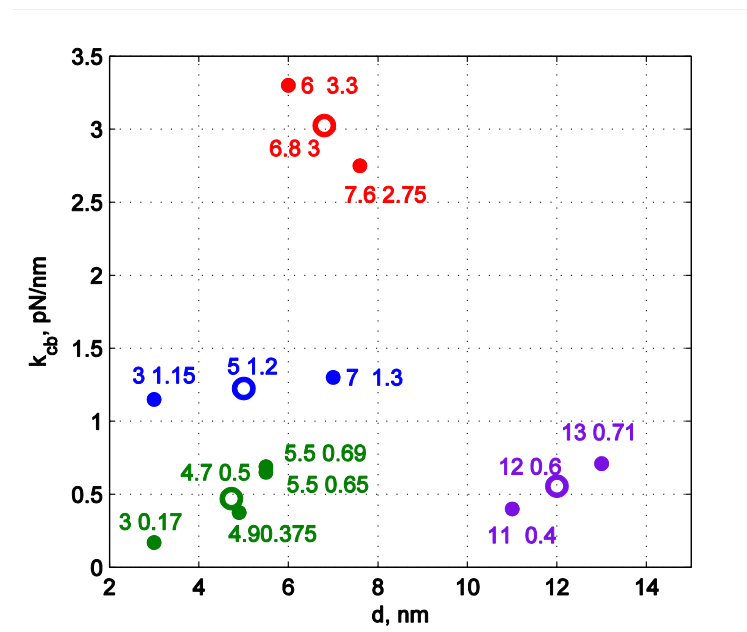


Рис. В.1. Значення жорсткості еластичного елемента поперечного містка (k_{cb}) та величини його робочого ходу (d), отримані експериментально ((3, 0.17) [153], (4.9, 0.375) [154], (5.5, 0.69) [155], (5.5, 0.65) [156], (11, 0.4) [157], (13, 0.71) [158], (7, 1.3) [159], (6, 3.3) [20], (7.6, 2.75) [160]). Різні пари значень (d, k_{cb}) показані заповненими маркерами. Сукупність пар (d, k_{cb}) була розбита на групи (показано різними кольорами), для кожної групи обчислене середнє d та k_{cb} (їх значення представлені незаповненим маркером).

Якщо в моделі передбачалося, що місток виконує свій робочий хід у кілька етапів, сумарний робочий хід не перевищував 15 нм.

Діапазони варіювання d та k_{cb}

#	d , нм	k_{cb} , пН/нм
1	[2 15]	[0.15 3.5]
2	[3 5.5]	[0.15 0.7]
3	[11 13]	[0.4 0.7]
4	[3 7]	[1.1 1.3]
5	[6 7.6]	[2.7 3.3]
6	[10 13]	[2.2 3.7]
7	[10 13]	[1.2 2.2]
8	[5 8],	[2.2 3.7]
9	[5 8]	[1.2 2.2]

Симуляція східчастих та гармонійних змін довжини. В моделі здійснювалась симуляція східчастих та гармонійних змін довжини. При гармонійних змінах довжина півсаркомеру мінялась за законом:

$$L_{hs} = A_{hs} \sin(2\pi ft) \quad (\text{В.17})$$

де f - частота гармонійних змін довжини, A_{hs} - їх амплітуда, t - час. Для одержання частотних характеристик, отримувалися силові відгуки на гармонійні зміни довжини з різними частотами f із заданого діапазону. Для таких відгуків визначалися амплітуди $P_{hs}(f)$ та фаза φ . Для пари значень $P_{hs}(f)/A_{hs}$ та $\varphi(f)$ комплексний модуль складає:

$$Y(f) = P_{hs} / A_{hs} [\cos(\varphi) + i \sin(\varphi)] \quad (\text{В.18})$$

Окрім силового відгуку півсаркомеру в моделі отримувались окремі компоненти цього відгуку – силові відгуки на зміни довжини фракцій поперечних містків в різних зв'язаних станах (3 компоненти).

Цільові функції. Комплексний модуль, отриманий в моделі, припасовувався до частотних характеристики скінованих м'язових волокон з поперекового м'яза кролика, що були отримані експериментально [88] (20°C , $[MgATP]=5.1$ ммоль, $[P_i]=8$ ммоль). Параметри експериментально отриманого комплексного модуля $Y_0(if)$ представлені в таблиці 1.1. В іншому варіанті з експериментального комплексного модулю [88] математично отримувалися перехідні характеристики, і до них припасовувався силовий відгук на східчасті зміни довжини, отриманий в моделі.

Були випробувані різні цільові функції. Цільові функції обчислювали відхилення e спостережуваних величин, одержуваних у моделі, від експериментальних:

1) помилка по АФЧХ

$$e = \frac{\sum_f \Delta Y(if)^* \Delta Y(if)}{\sum_f Y_0(if)^* Y_0(if)} \quad (B.19)$$

$$\Delta Y(if) = Y_0(if) - Y(if)$$

де $Y_0(if)$ та $Y(if)$ комплексний модуль одержуваний експериментально та в результаті симуляції відповідно;

2) помилка по ФЧХ

$$e = \frac{\sum_f \Delta \varphi(f)^2}{\sum_f \varphi^0(f)^2} \quad (B.20)$$

$$\Delta \varphi(f) = \varphi^0 - \varphi = \arg \left[Y^0(if) \right] - \arg \left[Y(if) \right]$$

де φ^0 та φ ФЧХ одержувана експериментально та в результаті симуляції відповідно;

3) помилка за формою АФЧХ (безвідносно до положення АФЧХ на комплексній площині)

$$e = \frac{\sum_f \Delta Y(if)^* \Delta Y(if)}{\sum_f Y_0(if)^* Y_0(if)}$$

$$\Delta Y(if) = Y'_0(if) - Y'(if)$$

$$Y'(if) = Y(if) - \left(\overline{\operatorname{Re} \left[Y(if) \right]} + i \overline{\operatorname{Im} \left[Y(if) \right]} \right) \quad (B.21)$$

$$Y'_0(if) = Y_0(if) - \left(\overline{\operatorname{Re} \left[Y_0(if) \right]} + i \overline{\operatorname{Im} \left[Y_0(if) \right]} \right)$$

4) помилка за перехідними характеристиками

$$e = \frac{\sum_{i=1}^{N_t} \left[\Delta P_0(t_i) - \Delta P(t_i) \right]^2}{N_t} \quad (B.22)$$

де N_t - загальна кількість дискретних моментів часу t_i , у які були розраховані значення сили півсаркомеру в моделі; $\Delta P(t_i)$, $\Delta P_0(t_i)$ - силові відгуки на східчасту зміну довжини, отримані в моделі та в експерименті відповідно. При розрахунку (B.22) сітка значень моментів часу t_i проріджувалася таким чином, аби на часових інтервалах, що відповідають фазам 2-4 силового відгуку, була рівна кількість вузлів.

Границі часових інтервалів фаз 2-4 визначалась на основі референтного відгуку ΔP_0 . Помилка (В.22) знаходилась для силового відгуку на східчате розтягання й скорочення однакової по модулю амплітуди, після чого знаходилась їх сума. Перехідна характеристика $\Delta P_0(t)$ отримувалась на основі параметрів експериментального комплексного модуля (1.4):

$$\Delta P_0(t) = H + A \exp(-2\pi at) - B \exp(-2\pi bt) + C \exp(-2\pi ct) \quad (\text{В.23})$$

Всі параметри амплітуд в (В.23) мають бути відповідним чином нормовані (див. нижче). У випадку обчислень помилки за силовим відгуком, помилка обчислювалась для відгуків на східчате розтягання та скорочення, після чого знаходилась їх сума.

5) Помилка за формою силового відгуку

$$e = \sqrt{\sum_{i=1}^{N_t} [\Delta P_0(t_i) - \Delta P'(t_i)]^2} / N_t \quad (\text{В.24})$$

$$\Delta P'(t_i) = \Delta P(t_i) - \sum_{i=1}^{N_t} (\Delta P(t_i) - \Delta P_0(t_i)) / N_t$$

б) Помилка за формою силового відгуку та його зсуву уздовж осі ординат

$$e = \left| \sum_{i=1}^{N_t} (\Delta P(t_i) - \Delta P_0(t_i)) / N_t \right| + \sqrt{\sum_{i=1}^{N_t} [\Delta P_0(t_i) - \Delta P'(t_i)]^2} / N_t \quad (\text{В.25})$$

$$\Delta P'(t_i) = \Delta P(t_i) - \sum_{i=1}^{N_t} (\Delta P(t_i) - \Delta P_0(t_i)) / N_t$$

В.2. Результати оптимізації

Для моделей з таблиці 7.1. був розрахований ряд величин, що дозволяють провести їх додаткову верифікацію. Для оцінки відхилення силових відгуків від гармонійної форми використовувався коефіцієнт нелінійних спотворень $\langle NRMSD \rangle$, що був обчислений та усереднений для всіх частот вхідного сигналу, та лише середніх та високих ($>5\text{Гц}$), таблиця В.3 З таблиці В.3 бачимо, що моделі які мають найменш ангармонічний відгук – це моделі: 8, 16, 46, 51, 50, 52, 34.

Таблиця В.3

Величини, що характеризують якість припасування оптимальних моделей

№	NRMSD*10 ⁻⁵		Помилка припасування перехідних характеристик, пН						Помилка припасування АФЧХ	
	$f_i > 0$ Гц	$f_i > 5$ Гц	e_{lng}^{cb}	e_{cnt}^{cb}	e_{lng}^{hd}	e_{cnt}^{hd}	$e_{lng}^{cb} + e_{cnt}^{cb}$	$e_{lng}^{hd} + e_{cnt}^{hd}$	e^{cb}	e^{hd}
8	5,46	5,51	0,016	0,029	0,043	0,027	0,045	0,070	0,068	2,00
16	5,60	5,52	0,013	0,035	0,037	0,023	0,049	0,060	0,047	1,39
20	11,16	12,89	0,122	0,071	0,157	0,098	0,192	0,255	0,933	7,83
41	11,10	10,65	0,019	0,054	0,047	0,023	0,073	0,071	0,131	1,79
44	9,82	8,45	0,013	0,055	0,040	0,024	0,068	0,064	0,089	1,27
46	6,58	6,30	0,012	0,043	0,039	0,014	0,055	0,053	0,097	1,47
7	14,27	9,12	0,015	0,011	0,051	0,040	0,026	0,091	0,090	1,83
17	18,11	8,41	0,013	0,017	0,027	0,027	0,030	0,053	0,071	1,15
35	15,50	8,43	0,012	0,010	0,044	0,036	0,022	0,080	0,060	1,84
36	14,92	9,95	0,018	0,041	0,049	0,014	0,059	0,063	0,038	0,75
39	9,00	7,83	0,030	0,019	0,062	0,015	0,049	0,077	0,031	1,20
45	12,30	5,91	0,052	0,047	0,083	0,023	0,100	0,106	0,128	1,13
51	7,06	7,41	0,023	0,048	0,030	0,019	0,071	0,049	0,103	0,91
50	10,48	8,68	0,025	0,045	0,009	0,014	0,071	0,023	0,224	0,01
52	5,68	5,28	0,027	0,031	0,012	0,009	0,059	0,022	0,092	0,78
34	6,96	7,72	0,024	0,020	0,052	0,031	0,044	0,084	0,042	1,01
21	23,38	9,26	0,028	0,040	0,059	0,065	0,067	0,124	0,082	2,11

Порівняння моделей між собою, наскільки гарно вони припасовують експериментальні частотні та перехідні характеристики, можна здійснити, використовуючи значення цільових функцій. В таблиці В.3 представлені помилки припасування перехідних характеристик, окремо для східчастого розтягання e_{lng} та скорочення e_{cnt} . Перерахунок експериментальних результатів здійснювався в припущенні, що силогенеруючою одиницею півсаркомеру є голівка (e_{lng}^{hd} , e_{cnt}^{hd}) або місток (e_{lng}^{cb} , e_{cnt}^{cb}), розділ 2.2. Аналогічні величини були розраховані і для помилки припасування АФЧХ, ФЧХ та АЧХ (перерахунок експериментальних результатів також здійснювалося в припущенні, що силогенеруючою одиницею півсаркомеру є голівка або поперечний місток – e^{hd} , e^{cb}), таблиця В.3 та В.4.

Таблиця В.4

Величини, що характеризують якість припасування оптимальних моделей

Модель №	Помилка припасування АЧХ, пН		Помилка припасування ФЧХ, грд	Характерна частота, Гц		Максимальне відставання по фазі, грд	P_0 , пН	С
	e^{cb}	e^{hd}		В	с			
8	46,1	136,9	8,07	12,0	51,3	-7,2	2,26	0,39
16	37,6	118,6	8,18	11,9	50,0	-5,9	2,43	0,46
20	182,1	269,9	12,03	13,0	44,7	-32,7	1,36	0,21
41	51,9	124,6	16,61	7,2	30,8	-19,1	0,45	0,22
44	41,9	105,1	13,97	7,2	33,5	-8,8	0,42	0,46
46	45,4	113,3	13,39	7,2	36,1	-1,7	0,61	0,62
7	53,7	136,5	11,63	10,5	30,0	-20,5	1,93	0,30
17	49,7	108,2	8,84	10,5	40,0	-12,9	2,70	0,46
35	45,4	137,1	7,43	15,0	40,0	-22,3	2,15	0,33
36	27,3	86,0	8,01	10,5	40,0	-19,5	0,34	0,14
39	19,8	109,4	8,00	9,2	55,0	-13,8	0,70	0,24
45	44,2	95,1	14,45	4,6	30,8	-7,1	0,50	0,24
51	56,3	94,6	10,92	9,2	63,6	-7,4	2,28	0,79
50	96,3	7,0	3,80	13,3	55,7	-9,7	0,55	0,48
52	41,0	83,8	16,83	5,0	23,4	-0,9	1,01	0,82
34	37,4	97,9	5,19	10,8	71,1	-10,8	1,26	0,23
21	52,6	141,2	7,10	13,1	38,2	-16,3	2,05	0,25

Для частотних характеристик отриманих моделей також були оцінені значення характерних частот (b та c), рис. .В.1, таблиця В.4.

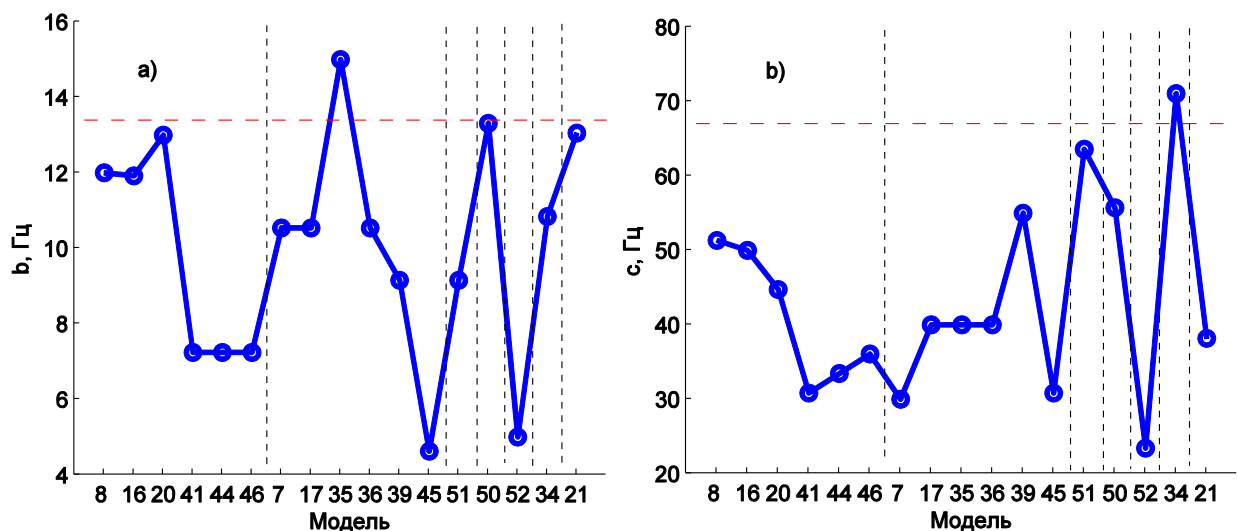


Рис. В.1. Порівняння положення екстремальних значень кривій ФЧХ, а) в області характерної частоти $2\pi b$, та б) характерної частоти $2\pi c$, в моделях та експерименті. Значення, отримані в різних моделях, показані маркерами. Відповідні експериментальні значення показані горизонтальними пунктирними лініями.

Набігання фази при частотах, що є близькими до характерної частоти b , показані на рис. В.2. Від'ємність фази характеризує здатність м'язового волокна генерувати роботу на цій частоті. Для багатьох моделей сила відстає по фазі від довжині більше ніж в експерименті. Є певна кореляція між значеннями жорсткості містка та значенням фази. Фаза найбільш близька до експериментальної в моделях М50 та М34.

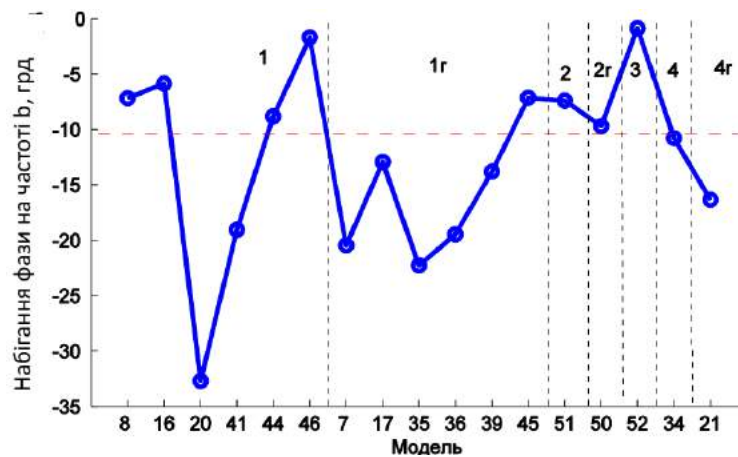


Рис. В.2. Порівняння екстремальних значень кривої ФЧХ в області характерної частоти b в моделях та експерименті. Значення, отримані в різних моделях, показані маркерами. Експериментальне значення показане горизонтальною пунктирною лінією.

В експериментах як по східчастій, так і гармонійній зміні довжини реєструють зміни напрути відносно ізометричного рівня. Однак ізометрична напруга характеризує кількість зв'язаних поперечних містків і є важливою характеристикою м'язового волокна. Порівняння ізометричної сили та заселеності в моделях та експерименті, показані на рис.В.3 та рис.В.4 відповідно. З рис.В.3 видно, що моделі краще припасовують експериментальні дані, перераховані в припущенні, що тільки одна із двох голівок містка генерує силу.

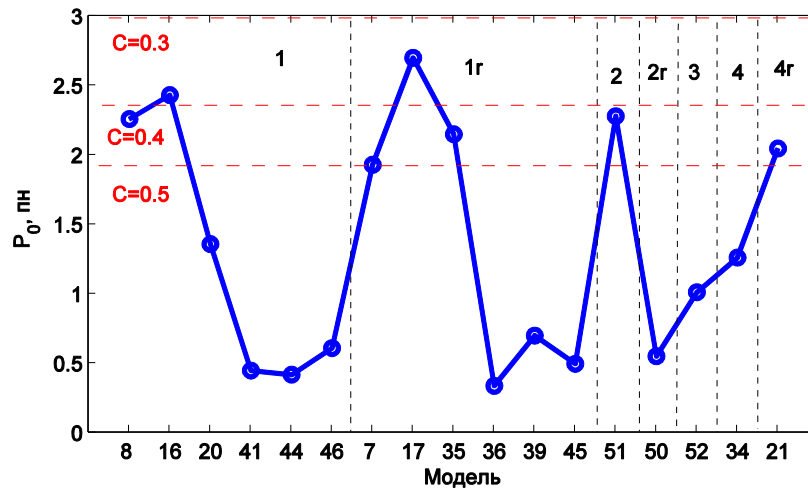


Рис. В.3. Порівняння ізометричної сили в моделях з експериментальними значеннями. Ізометрична сила, що була обчислена в моделях, показана маркерами. Експериментальні значення ізометричної сили, перераховані на одну міозинову голівку, показані горизонтальними пунктирними лініями (під лініями підписані значення заселеності, якому відповідає дане значення сили)

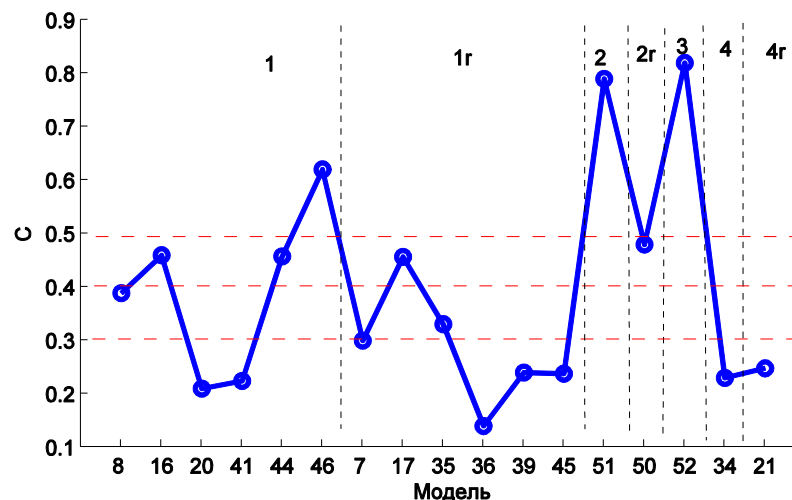


Рис. В.4. Порівняння частки зв'язаних поперечних містків в моделях та експерименті. Заселеність в різних моделях показана маркерами. Експериментальні значення заселеності показані горизонтальними пунктирними лініями.

Якщо порівняти параметри оптимальних моделей (таблиця 7.1.) з експериментальними значеннями, можна зазначити наступне. Жорсткість еластичного елементу міозинового мотору більшості моделей лежить у діапазоні 0.5-1.5 пн/нм. Таке значення жорсткості дають експерименти з одиничними молекулами. Також є значення жорсткості, що є близькими до значень, які одержують в експериментах з одиничними м'язовими волокнами (2-3 пн/нм; модель

M20), однак ці моделі дають більше значення амплітуди силового відгуку в порівнянні з експериментальним.

Більшість моделей мають один робочий хід, наявність додаткового робочого ходу не створювала принципових відмінностей у поведінці моделей. Величина робочого ходу d_1 для більшості моделей лежить у діапазоні 4-8 нм. Такі значення близькі до експериментальних, що одержуються для субфрагменту-1. Для моделей M50, M52, значення робочого ходу становить 10 нм, це значення узгоджується зі значеннями, що одержуються в структурних дослідженнях, у дослідженнях з використанням м'язових волокон, а також з молекулами двоголового міозину.

Додаток С Список опублікованих праць за темою дисертації

Статті у наукових фахових виданнях:

1. 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)
2. 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)
3. 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)
4. Міщенко А.М., Тарадіна Г.В. Роль структури саркомеру 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)
5. 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)

Тези наукових доповідей:

6. Беспалова С.В., Міщенко 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., Міщенко 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., Міщенко 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. Міщенко 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.