

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА АКТИВНОСТЬ И ПРОВОДИМОСТЬ РИАНОДИНОВОГО РЕЦЕПТОРА СЕРДЕЧНОЙ КЛЕТКИ: МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

© 2016 г. А.С. Москвин\*, Б.Я. Япаров\*, А.М. Рывкин\* \*\*, О.Э. Соловьева\* \*\*

\*Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19;

\*\*Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН,  
620049, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

E-mail: bogdan.iaparov@urfu.ru

Поступила в редакцию 01.11.15 г.

После доработки 05.01.16 г.

В рамках электронно-конформационной модели изучено влияние температуры на функционирование рианодинового рецептора сердечной клетки. Показано, что простая электронно-конформационная модель с учетом аррениусовского характера температурной зависимости «внутренней» и «внешней» вязкости, а также специфической «термочувствительности» туннельного перехода «открытие ↔ закрытие» способна дать не только качественное, но и количественное описание температурных эффектов для изолированных рианодиновых каналов. Иллюстрация возможностей модели дана на примере объяснения известных экспериментальных данных исследования температурных эффектов для изолированных рианодиновых каналов сердечной клетки овцы (R. Sitsapesan et al., J. Physiol., **434**, 469 (1991)).

*Ключевые слова:* рианодиновый рецептор, температура, электронно-конформационная модель, математическое моделирование.

Сокращение сердечной мышцы очень чувствительно к изменению температуры. Так, гипотермия увеличивает амплитуды внутриклеточной концентрации кальция и сокращения сердечной мышцы, а также длительность потенциала действия [1]. Экспериментальные работы по изучению влияния температуры на кальциевые каналы L-типа [2–4], натрий-кальциевый обменник [5] и рианодиновый рецептор (RyR) сердечной клетки [6] показывают, что одной из главных причин зависимости работы сердечной мышцы от температуры являются изменения в функционировании ионных каналов кардиомиоцита.

Основной характеристикой описания температурной чувствительности является температурный коэффициент  $Q_{10}$ , равный относительному изменению амплитуды той или иной величины при увеличении температуры на  $10^{\circ}\text{C}$ . Для большинства ионных каналов  $Q_{10}$  меняется в пределах от двух до пяти. Исключение составляет семейство термочувствительных TRP-

каналов [7], которые находятся в сенсорных нервах и обеспечивают чувствительность к температуре,  $Q_{10}$  для них варьируется от 2 до 100 [8].

В данной работе мы подробно остановимся на моделировании температурных эффектов для лиганд-активируемых RyR-каналов. Этот самый большой из известных ионных каналов с молекулярной массой более 2 МДа [9] играет центральную роль во внутриклеточной кальциевой динамике кардиомиоцитов, нарушение его функционирования приводит к острой сердечной недостаточности и аритмиям [10].

Эксперименты на изолированных RyR-каналах сердечной клетки овцы [6] показывают, что охлаждение с  $23$  до  $5^{\circ}\text{C}$  приводит к качественному изменению характера токовых флуктуаций с увеличением вероятности открытия канала  $P_{\text{open}}$  ( $Q_{10} = 2,5$ ) за счет увеличения среднего времени пребывания канала в открытом состоянии  $\langle t_{\text{open}} \rangle$  ( $Q_{10} = 5,7$ ) при почти неизменном среднем времени пребывания канала в закрытом состоянии  $\langle t_{\text{close}} \rangle$  ( $Q_{10} = 1,1$ ). С точки зрения физики конденсированного состояния остается непонятным, как небольшое изменение абсолютной температуры в 3% при-

Сокращения: RyR – рианодиновый рецептор, ЭК-модель – электронно-конформационная модель, КП – конформационный потенциал, СР – саркоплазматический ретикулум.

водит к многократным изменениям в активности ионного канала.

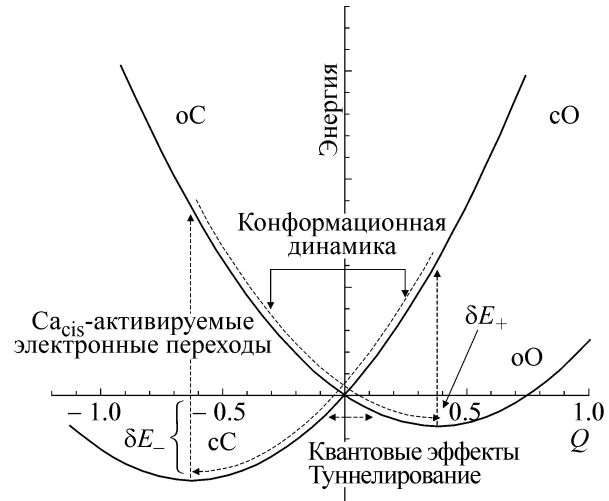
В данной работе мы показываем, что предложенная ранее электронно-конформационная модель RyR-каналов [11–13] успешно воспроизводит наблюдаемые в экспериментах температурные эффекты и, в отличие от чисто феноменологических моделей [8,14,15], позволяет вскрыть молекулярные механизмы формирования особых температурных свойств. Предварительные результаты работы опубликованы в кратком сообщении [16].

### ЭЛЕКТРОННО-КОНФОРМАЦИОННАЯ МОДЕЛЬ

RyR-канал является гигантским макромолекулярным белком ( $30 \times 30$  нм), состоящим из четырех идентичных полипептидных цепей с молекулярной массой 565 кДа [17]. Как и все ионные каналы, он имеет огромное число внутренних электронных и конформационных степеней свободы. Традиционным подходом к моделированию стохастической динамики RyR-каналов являются агрегированные марковские схемы (aggregated Markov chains) [18], которые фактически являются обобщением простейшей модели «дырка в стене» с набором различных (открытых и закрытых) состояний, описываемых в рамках теории марковских цепей. Количество активных состояний каждого класса подбирается, основываясь на методе максимального правдоподобия (см., например, [19]).

Очевидно, что эти модели, несмотря на их популярность, вряд ли могут претендовать на адекватное описание механизмов формирования специфических свойств и понимания природы функционирования RyR-каналов.

В работах [11–13] на основе обобщения широко известной теории фотоиндуцированных фазовых переходов [20,21] была предложена и развита электронно-конформационная (ЭК) модель одиночного RyR-канала и кластера RyR-каналов, способная описать важнейшие особенности поведения изолированных и взаимодействующих RyR-каналов в рабочих кардиомиоцитах и клетках водителя ритма. В основе простейшей ЭК-модели лежит представление о RyR-канале как о некой «резиновой» трубке с переменным сечением, определяемым конформационной координатой  $Q$ , и легкой «электронной крышкой», переключаемой связыванием/отсоединением ионов с RyR-каналом. «Электронная крышка» связана с конформационной координатой и работает как триггер для стимуляции ее изменения, соответственно изменения проводимости RyR-канала. Другими словами,



**Рис. 1.** Конформационный потенциал RyR-канала в ЭК модели при  $\hbar = \Delta = 0$  (adiaбатический потенциал) с глобальным минимумом в закрытом состоянии. Строчные буквы «o», «c» обозначают электронно-открытое и закрытое состояния соответственно, прописные буквы «O», «C» обозначают конформационно-открытое и закрытое состояния, соответственно.  $\delta E_-$ ,  $\delta E_+$  — потенциальные барьеры для закрытого и открытого состояний соответственно. Вертикальными стрелками обозначены франк-кондоновские электронные переходы, горизонтальными — туннельные переходы, наклонными — конформационная динамика.

в ЭК-модели огромное число степеней свободы RyR-канала сводится к двум — быстрой и медленной, условно названных соответственно электронной и конформационной. В простейшем варианте модели предполагается существование только двух электронных состояний канала: «открытого» и «закрытого», а единственная конформационная координата  $Q$  считается классической переменной. На рис. 1 представлена модель RyR-канала с набором характерных состояний системы. Изменение электронного и конформационного состояний регулирует основную функцию RyR-каналов, определяет, открыт ли канал и способен ли пропускать ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Конформационная координата  $Q$  определяет «сечение» RyR-канала, или, точнее, проводимость канала, в то время как электронная степень свободы определяет пребывание его в открытом или закрытом состоянии. Поток ионов  $\text{Ca}^{2+}$  через одиночный канал определяется формулой:

$$J_{\text{RyR}}(Q) = k_{\text{rel}} D(Q) (Ca_{\text{JSR}} - Ca_{\text{SS}}), \quad (1)$$

где  $k_{\text{rel}}$  — константа скорости потока высвобождения, а функциональная зависимость  $D(Q)$  связана со степенью открытости канала. Ниже

мы предполагаем степенную зависимость от конформационной координаты:

$$D(Q) = D_0 Q^\beta, \quad (2)$$

при  $Q > 0$  и  $D(Q \leq 0) = 0$ .

Принципиально новым элементом ЭК-модели является «энергетический» подход, т.е. введение энергии как важнейшей характеристики состояния RyR-канала. В простейшем эффективном гамильтониане – операторе энергии одиночного RyR-канала

$$\hat{H} = -\Delta \hat{s}_z - h \hat{s}_x - pQ + \frac{KQ^2}{2} + aQ \hat{s}_z, \quad (3)$$

где  $s_x$ ,  $s_z$  – матрицы Паули, первые два слагаемых описывают чисто электронные эффекты: первое слагаемое описывает разницу энергий электронных состояний  $\Delta$ , второе описывает квантовые эффекты перехода между двумя электронными состояниями. Следующие два слагаемых – линейный и квадратичный вклады в упругую энергию канала, причем линейное слагаемое формально соответствует энергии внешних воздействий, описываемых «эффективным давлением»  $p$ ,  $K$  – эффективная постоянная упругости канала. Последнее слагаемое описывает электронно-конформационные взаимодействия с константой взаимодействия  $a$ . При выборе безразмерной конформационной координаты  $Q$  все параметры  $\Delta$ ,  $h$ ,  $p$ ,  $K$ ,  $a$  имеют размерность энергии.

Два собственных значения гамильтониана определяют две ветви адиабатического конформационного потенциала (КП)

$$E(\mu, Q) = \frac{KQ^2}{2} - pQ \pm \frac{1}{2} \sqrt{(\Delta - aQ)^2 + h^2} \quad (4)$$

и при определенных условиях – появление бистабильности, т.е. двух минимумов конформационного потенциала, расположенных слева и справа от точки пересечения ветвей КП и связываемых с закрытым и открытым состояниями канала соответственно. Ниже для простоты мы рассматриваем «adiaбатический» КП, полагая  $\hbar = 0$  (рис. 1).

К сожалению, в настоящее время мы не располагаем ни экспериментальными данными, ни данными микроскопических расчетов, которые давали бы независимую достоверную информацию относительно параметров ЭК-модели и их зависимости от внешних факторов типа люменальной концентрации кальция. В этой ситуации работоспособность модели доказывается возможностью описания как можно боль-

шого набора экспериментальных данных при минимальном произволе в выборе параметров.

Динамика RyR-канала включает быстрые («франк-кондоновские») электронные переходы между ветвями КП, идущие без изменения конформационной координаты, классическую конформационную динамику, а также классические термоактивируемые и квантовые туннельные резонансные «не-франк-кондоновские» переходы.

Особенностью ЭК-модели является важная роль квантовых эффектов, в частности туннельных переходов, вблизи точки пересечения ветвей конформационного потенциала, т.е. вырождения или квазивырождения. При этом туннельные переходы не сопровождаются заметным изменением конформационной координаты. Вероятность туннельного перехода при удалении от точки пересечения ветвей КП, т.е. перехода с существенным изменением конформационной координаты, становится пренебрежимо малой. Экспериментальных данных об однозначном обнаружении туннельных эффектов в RyR-каналах на сегодня нет, однако существование туннелирования в таких структурах, как белковая глобула, экспериментально установлено. Мы предположили, что резонансное квантовое туннелирование между ветвями конформационного потенциала имеет место с вероятностью, подчиняющейся эффективному закону Гамова:

$$P_{\text{tun}} = P_0 e^{-AL(Q)\sqrt{\Delta E(Q)}}, \quad (5)$$

где  $L(Q) = \Delta Q_{\pm}$  – ширина, а  $\Delta E(Q)$  – высота энергетического барьера, или разность энергий точки туннелирования и точки пересечения ветвей КП (см. рис. 1),  $P_0$  и  $A$  – константы.

Взаимодействие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  с активными центрами RyR-канала предполагает резонансный характер электронных переходов между ветвями КП, так что вероятность перехода может быть аппроксимирована лоренцианом:

$$P_{\text{elect}}(E, \Delta) = \lambda_{\text{elect}} \frac{\delta^2}{\delta^2 + (\Delta_{\pm} - E)^2}, \quad (6)$$

где  $E$  – энергия ионов  $\text{Ca}^{2+}$  ( $T_{\text{Ca}^{2+}} = \frac{E}{k_B}$  – эффективная «температура» ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ),  $\Delta_{\pm} = |E_+ - E_-|$  – энергия электронного возбуждения (разность энергий двух ветвей конформационного потенциала),  $\delta$  – полуширина резонансного пика,  $\lambda_{\text{elect}} = P_{\text{res}} = P_{\text{elect}}(E = \Delta)$  – амплитуда вероятности, зависит от концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в диадном пространстве.

В настоящее время нет достаточно ясного понимания механизма регуляции локальной кальциевой сигнализации в сердечной клетке, в частности, относительной роли ионов кальция, проникающих в диадное пространство сквозь сарколемму через каналы L-типа ( $Ca_{SS}$ ) и через RyR-каналы из саркоплазматического ретикулума (CP), а также роли люменального кальция ( $Ca_{jSR}$ ). В отличие от чистого «электронного» влияния  $Ca_{SS}$  влияние достаточно медленного изменения  $Ca_{jSR}$  на процесс активации RyR-каналов можно рассматривать как чисто «механическое», через конформационное давление, действующее на каналы [11–13]. Параметр эффективного давления  $p$  можно считать функцией  $Ca_{jSR}$  типа кривой Хилла:

$$p = 2 \frac{Ca_{jSR}^n}{Ca_{jSR}^n + K_{Ca}^n} - 1, \quad (7)$$

где  $K_{Ca}$  – значение  $Ca_{jSR}$ , при котором  $p = 0$ ,  $n$  – параметр, определяющий степень нелинейности связи  $p$  и концентрации  $Ca^{2+}$  в люмене. Изменение параметра  $p$  в пределах  $(-1;1)$  приводит к радикальному изменению «энергетики» RyR-каналов и ключевому эффекту ЭК-модели – смене стабильного основного состояния с закрытого на открытое:  $cC \rightarrow oO$ . В целом процесс открытия–закрытия RyR-канала в рамках ЭК-модели происходит по следующей схеме (см. рис. 1).

1.  $cC \rightarrow oC$ : Электронный переход с «электронно-закрытой» на «электронно-открытую» ветвь КП.

2.  $oC \rightarrow oO$ : Конформационная релаксация, т.е. движение к минимуму электронно-открытой ветви КП. Канал может двигаться как аperiодично, так и совершая затухающие колебания около минимума ветви в зависимости от величины параметра внутреннего трения  $\Gamma$ .

3.  $oO^* \rightarrow cO^{**}$ : Туннельный переход на «электронно-закрытую» ветвь КП.

4.  $cO^{**} \rightarrow cO$ : Конформационная релаксация к минимуму электронно-закрытой ветви КП.

Как показано в работах [11–13,22–26], ЭК-модель способна описать ключевые особенности функционирования как одиночного RyR, так и RyR-кластеров в кальцийвысвобождающих единицах. Предыдущие модели кальциевой динамики не давали адекватного описания процессов открытия/закрытия RyR-каналов в  $Ca^{2+}$ -высвобождающих единицах [27]. Интегрирование ЭК-теории функционирования RyR-каналов в модель кальциевой динамики в сердечных клетках позволило на субмолекулярном уровне

исследовать процессы авторитмического и стимулированного со стороны мембраны высвобождения кальция из CP. В частности, было показано, что изменение параметров чувствительности RyR-каналов к изменениям концентрации  $Ca^{2+}$  как в люмене CP, так и в диадном пространстве позволяет варьировать в достаточно широком диапазоне частоту генерации потенциала действия в клетках водителя сердечного ритма [26].

### КОНФОРМАЦИОННАЯ ДИНАМИКА И ТЕМПЕРАТУРНЫЕ ЭФФЕКТЫ В ЭЛЕКТРОННО-КОНФОРМАЦИОННОЙ МОДЕЛИ

Конформационная динамика в ЭК-модели описывается уравнением Ланжевена:

$$M \ddot{Q} = - \frac{\partial}{\partial Q} E_{\pm}(Q) - \Gamma \dot{Q} + F(t), \quad (8)$$

где  $M$  – эффективная масса (в дальнейшем  $M = 1$ ), первое слагаемое в правой части описывает обобщенную силу,  $\Gamma$  – параметр эффективной конформационной «вязкости» (конформационное трение),  $F(t)$  – сила случайных «температурных» флуктуаций (гауссов шум) [28], причем  $\overline{F(t)} = 0$  и

$$\overline{F(t)F(t')} = 2\gamma k_B T \delta(t - t'), \quad (9)$$

где  $2\gamma k_B T$  – спектральная плотность флуктуаций (в отличие от работы [16] здесь мы используем стандартное определение термофлуктуационной силы),  $\delta(t - t')$  –  $\delta$ -функция Дирака. Случайная сила  $F(t)$  – это остаточная сила, действующая на систему со стороны окружения в отсутствие систематической силы трения  $-\Gamma \dot{Q}$  [28]. Для замкнутой термодинамически равновесной системы выполняется флуктуационно-диссипативная теорема [28], связывающая флуктуации системы (их спектральную плотность) с ее диссипативными свойствами и вытекающая из одинаковой природы систематической силы трения и силы случайных флуктуаций. Вообще говоря, теорема утверждает равенство  $\Gamma = \gamma$ .

Однако для нашей модельной системы флуктуационно-диссипативная теорема неприменима в силу сразу нескольких обстоятельств. Прежде всего, мы имеем дело с модельным описанием неравновесной и незамкнутой многокомпонентной и многомодовой системы. RyR-канал представляет собой пример очень сложного композитного наноскопического белка, для которых принято выделять по крайней мере два типа диссипативной конформационной ди-

намики, условно – «внешней» и «внутренней» [29,30]. Первый связан с непосредственным влиянием цитоплазмы на динамику периферийных поверхностных атомов и определяется ее вязкостью  $\eta$ :  $\gamma \propto \eta$ , тогда как второй связан с эффективной внутренней вязкостью белка. К сожалению, даже для цитоплазмы достоверная информация о вязкости и ее температурной зависимости отсутствует (см., например, [29,30]). Ниже мы рассматриваем коэффициенты «внутреннего» ( $\Gamma$ ) и «внешнего» ( $\gamma$ ) трения как модельные параметры, предполагая для них температурную зависимость Аррениуса [30]:

$$\Gamma(T) = \Gamma_0 e^{\frac{E_\Gamma}{k_B T}}, \quad \gamma(T) = \gamma_0 e^{\frac{E_\gamma}{k_B T}}, \quad (10)$$

с энергиями активации  $E_\Gamma$  и  $E_\gamma$  соответственно ( $k_B$  – постоянная Больцмана). Более того, мы будем предполагать, что именно температурные зависимости коэффициентов трения определяют температурные эффекты для RuR-канала, считая остальные параметры ЭК-модели температурно-независимыми. Отметим, что учет температуры с характерным масштабом энергий  $k_B T$  автоматически предполагает при расчете температурных эффектов в ЭК-модели введение абсолютных энергий для ветвей КП.

Различие параметров «внутреннего» и «внешнего» трения приводит к существенному изменению температурной зависимости распределения конформационной координаты  $Q$  в окрестности минимумов диабатического КП [24]. В отсутствие электронных и туннельных переходов функция распределения конформационной координаты  $Q$  будет иметь вид:

$$\rho(Q) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{(Q-Q_0)^2}{2\sigma^2}} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{E(Q)}{k_B T^*}}, \quad (11)$$

где  $\delta^2 = \frac{\gamma}{\Gamma} \frac{k_B T}{K}$ ,  $Q_0$  – значение конформационной координаты в минимуме КП,  $E(Q) = \frac{1}{2} K(Q - Q_0)^2$  – упругая энергия,  $T^* = \frac{\gamma(T)}{\Gamma(T)} T$  – эффективная температура.

Таким образом, только при  $\Gamma = \gamma$ , т.е. в условиях выполнимости флуктуационно-диссипативной теоремы, мы приходим к обычному «больцмановскому» распределению. Естественно, что эффективная температура является функцией обычной температуры  $T$ . При  $\Gamma \gg \gamma$  эффективная температура будет много меньше реальной температуры, что приведет к драматическому усилению относительных темпера-

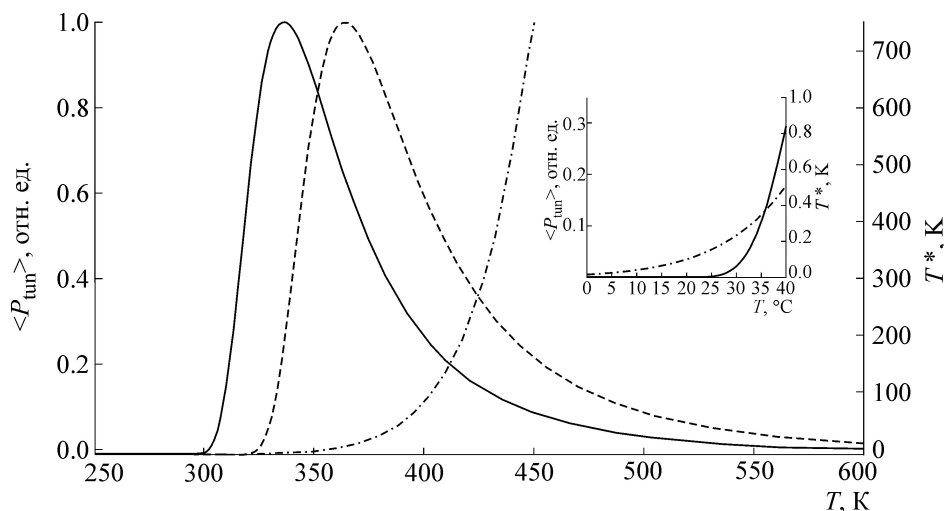
турных эффектов. Рост температуры приводит к росту заселенности конформационных состояний вблизи точки пересечения ветвей КП, т.е. к росту вероятности туннельного перехода «открытие  $\leftrightarrow$  закрытие» RuR-канала. Понижение температуры ведет к «замораживанию» канала вблизи минимума КП и подавлению туннелирования с одновременным ростом времени пребывания вблизи минимума КП.

Выражение для средней вероятности туннельного перехода «открытие  $\leftrightarrow$  закрытие» имеет следующий вид [24]:

$$\langle P_{\text{tun}} \rangle = P_0 \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-A\Delta Q \pm \sqrt{\Delta E}} \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} e^{-\frac{E(Q)}{k_B T^*}} dQ. \quad (12)$$

Очевидно, что  $\langle P_{\text{tun}} \rangle$  резко возрастает с приближением  $T^*$  к  $T_\pm^* = \delta E_\pm / k_B$ , где  $\delta E_\pm$  – высота барьера (расстояние от минимума до точки пересечения ветвей КП), затем имеет максимум вблизи  $T^* \approx T_\pm^*$  с относительно плавным спаданием при  $T^* > T_\pm^*$ .

Для иллюстрации на рис. 2 мы приводим температурную зависимость в широком температурном интервале, выходящем далеко за пределы физиологического режима, для перехода «открытие  $\rightarrow$  закрытие» ( $\langle P_{\text{tun}} \rangle_{\text{oc}}$ , сплошная кривая) и «закрытие  $\rightarrow$  открытие» ( $\langle P_{\text{tun}} \rangle_{\text{co}}$ , пунктирная кривая) при глобальном минимуме КП для закрытого состояния ( $p = -1$ ). В качестве единицы измерения типичных значений основных параметров ЭК-модели [16,22–26]:  $\Delta = h = 0$ ,  $a = 5$ ,  $K = 10$  был достаточно произвольно взят 1 мэВ, для остальных параметров ЭК-модели были приняты значения  $P_0 = 25 \text{ мс}^{-1}$ ,  $A_{\text{tun}} = 150$ ,  $\Gamma_0 = 4,3 \cdot 10^{-12}$ ,  $E_\Gamma = 666 \text{ мэВ}$  (15,2 ккал/моль),  $\gamma_0 = 5,6 \cdot 10^{-5}$ ,  $E_\gamma = 51,2 \text{ мэВ}$  (1,2 ккал/моль) [16], обеспечивающие количественное описание экспериментальных данных [6]. Как и ожидалось, для КП с глобальным минимумом для закрытого состояния ( $\delta E_- > \delta E_+$ ) резкий рост  $\langle P_{\text{tun}} \rangle_{\text{oc}}$  в сравнении с  $\langle P_{\text{tun}} \rangle_{\text{co}}$  сдвинут в сторону меньших температур. В области физиологических температур ( $T \sim 300 \text{ К}$ ) температурный коэффициент  $Q_{10}$  пренебрежимо мал для вероятности перехода «закрытие  $\rightarrow$  открытие» и достигает величины  $Q_{10} \sim 14$  для перехода «открытие  $\rightarrow$  закрытие». На рис. 2 также приведена и температурная зависимость эффективной температуры  $T^*(T)$ . В области физиологических температур (см. врезку)  $T^*$  не превышает одного градуса Кельвина, тогда как  $T^* = T$  при  $T \cong 435 \text{ К}$ .



**Рис. 2.** Температурные зависимости нормированной средней вероятности туннельного перехода (см. формулу (12)) с электронно-открытого на электронно-закрытое состояние (сплошная линия) и с электронно-закрытого на электронно-открытое (пунктирная линия). Штрих-пунктирной линией представлена температурная зависимость эффективной температуры. На врезке изображен диапазон температур 0–40°C в увеличенном масштабе.

Мы видим, что особенности туннельного перехода между ветвями КП и концепция эффективной температуры определяют важнейшие характеристики температурных эффектов в ЭК-модели RyR-канала.

#### МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ЭФФЕКТОВ ДЛЯ ИЗОЛИРОВАННОГО RyR КАНАЛА, СРАВНЕНИЕ С ЭКСПЕРИМЕНТОМ

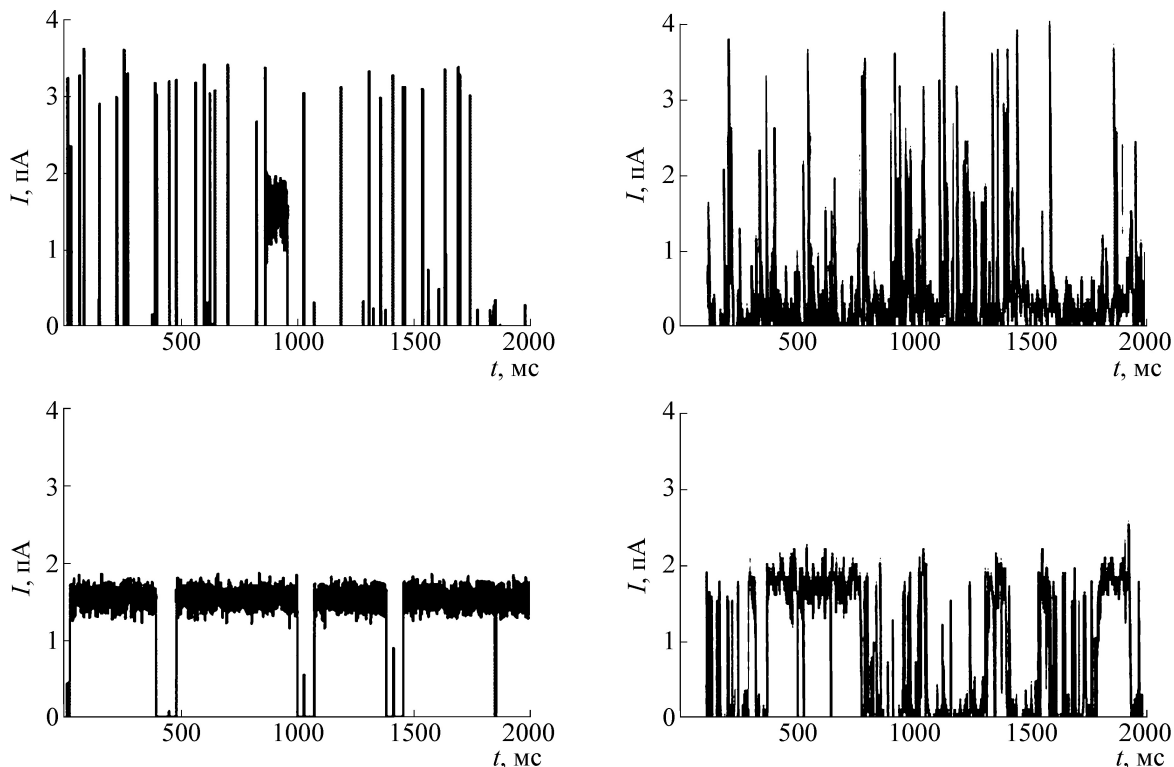
Используя стандартный протокол электронно-конформационной модели [11–13, 22–26], мы провели серию численных экспериментов по моделированию динамики изолированного RyR-канала при различных температурах. Выбор параметров модели (см. выше) был продиктован «визуальным» сравнением с экспериментальными данными из работы [6], полученными для RyR-канала сердечной клетки овцы в липидном бислое, а именно значениями средних времен пребывания канала в открытом ( $\langle t_{\text{open}} \rangle$ ) и закрытом ( $\langle t_{\text{close}} \rangle$ ) состояниях, вероятности открытия канала  $P_{\text{open}}$  при 5 и 23°C, а также зависимости максимальной проводимости RyR-канала от температуры. Наряду с конформационной динамикой в диабатическом КП и туннельными переходами, определяемыми вышеприведенными параметрами, мы учитывали быстрые  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемые франк-кондоновские электронные переходы  $\text{cC} \rightarrow \text{oC}$  и  $\text{oO} \rightarrow \text{cO}$  с независимыми от  $Q$  вероятностями  $P(\text{cC} \rightarrow \text{oC}) = 0,028 \text{ мс}^{-1}$  и  $P(\text{oO} \rightarrow \text{cO}) = 0,001 \text{ мс}^{-1}$  соответственно. Отметим, что во всех

случаях предполагается основное закрытое состояние канала.

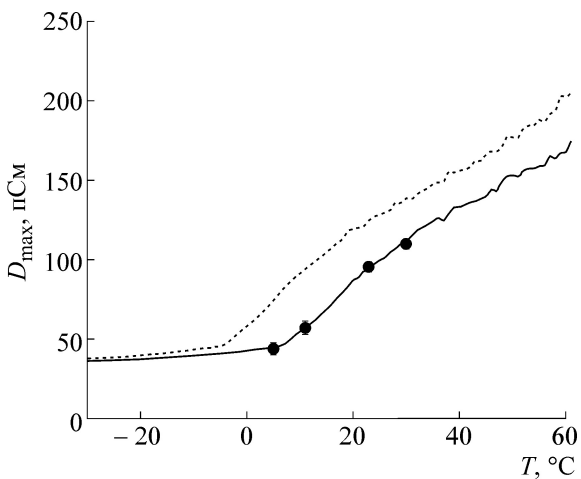
На рис. 3 представлено сравнение модельных репрезентативных временных зависимостей токовых флуктуаций для изолированного RyR-канала при температурах 5 и 23°C с соответствующими экспериментальными данными из работы [6], полученными при концентрации *cis*-кальция 10 мкМ. Охлаждение с 23 до 5°C приводит к качественному изменению характера токовых флуктуаций, свидетельствующем о переходе от очень малых к очень большим временам пребывания канала в открытом состоянии с одновременным уменьшением максимальных амплитуд тока. Эти особенности прежде всего связаны с ростом внутренней вязкости RyR-канала при понижении температуры.

Очевидно, что ЭК-модель позволяет не только качественно, но и количественно правильно воспроизвести эти температурные эффекты. Более убедительно возможности ЭК-модели иллюстрируются на рис. 4–6, где представлены зависимости  $D_{\text{max}}$ ,  $P_{\text{open}}$ ,  $\langle t_{\text{open}} \rangle$ ,  $\langle t_{\text{close}} \rangle$  RyR-канала от температуры. Сплошными линиями представлены результаты моделирования, точками представлены экспериментальные данные [6]. Штриховые, пунктирные и штрих-пунктирные линии представляют результаты моделирования при слегка измененных значениях параметров  $E_T$ ,  $a$  и  $P(\text{cC} \rightarrow \text{oC})$  соответственно.

Максимальная проводимость канала (рис. 4), рассчитанная при  $D_0 = 150$  и  $\beta = 0,65$ , сначала медленно, а при достижении некоторой крити-



**Рис. 3.** Репрезентативные флуктуации кальциевого тока через одиночный RyR-канал при 23°C (верхняя панель) и 5°C (нижняя панель). Слева результаты моделирования в рамках ЭК-модели, справа – экспериментальные данные [6].



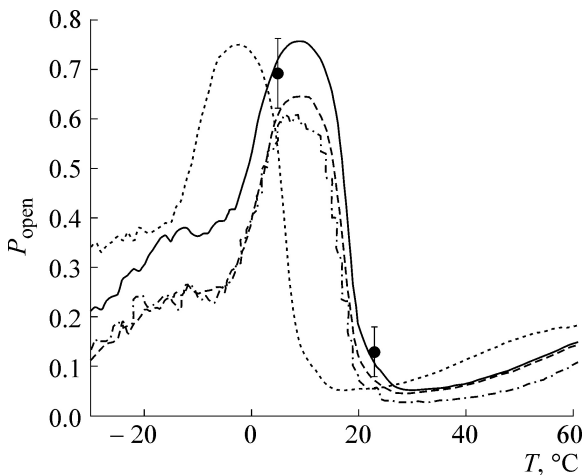
**Рис. 4.** Температурные зависимости максимальной проводимости RyR-канала. Точки – экспериментальные данные [6], кривые – результаты моделирования в рамках ЭК-модели (см. подробности в тексте).

ческой температуры  $\sim 5^\circ\text{C}$  резко растет с ростом температуры, что можно связать с характером зависимости  $Q(t)$  от внутренней вязкости. Действительно, при высоких  $\Gamma$  (низкие температуры) канал во время конформационной релак-

сации движется аperiodично, не достигая больших значений конформационной координаты. Однако с ростом температуры при  $T \geq 2^\circ\text{C}$  коэффициент трения становится меньше критического  $\Gamma \leq \Gamma_{\text{крит}} = 2\sqrt{K} = 2\sqrt{10}$  [24] и канал переходит в режим затухающих колебаний вблизи минимума электронно-открытой ветви, тем самым достигая больших значений  $Q$  и соответственно большей проводимости  $D$ .

На рис. 5 и 6 представлены модельные (кривые) и экспериментальные (точки) температурные зависимости  $P_{\text{open}}$ ,  $\langle t_{\text{open}} \rangle$ ,  $\langle t_{\text{close}} \rangle$ . Вероятность открытия канала  $P_{\text{open}}$  обнаруживает своеобразную температурную зависимость. До температуры  $\sim 10^\circ\text{C}$   $P_{\text{open}}$  монотонно возрастает, при этом возрастает как  $\langle t_{\text{open}} \rangle$ , так и  $\langle t_{\text{close}} \rangle$ . В промежутке от  $\sim 10^\circ\text{C}$  до  $\sim 20^\circ\text{C}$   $P_{\text{open}}$  и  $\langle t_{\text{open}} \rangle$  резко падают с  $Q_{10} \sim 8$  и  $Q_{10} \sim 34$  соответственно, а  $\langle t_{\text{close}} \rangle$  обнаруживает максимум при  $\sim 15^\circ\text{C}$ . При последующем увеличении температуры  $P_{\text{open}}$  медленно растет, оставаясь относительно малым, тогда как  $\langle t_{\text{open}} \rangle$  медленно спадает до нуля. Величина  $\langle t_{\text{close}} \rangle$  при  $T > 15^\circ\text{C}$  медленно спадает.

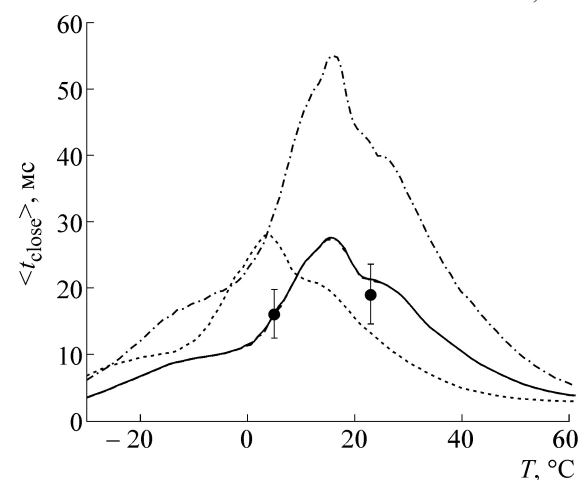
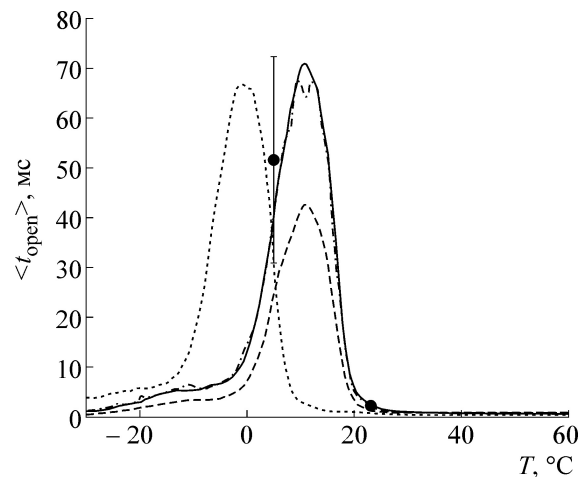
Специфические «колоколообразные» зависимости кинетических характеристик от температуры объясняются в рамках ЭК-модели особен-



**Рис. 5.** Температурные зависимости  $P_{\text{open}}$  для RyR-канала. Точки – экспериментальные данные [6], кривые – результаты моделирования в рамках ЭК-модели (см. подробности в тексте).

ностями температурной зависимости частоты туннельных переходов. Канал во время конформационной релаксации  $oC \rightarrow oO$  движется до минимума электронно-открытой ветви через точку пересечения ветвей, где вероятность туннельных переходов максимальна. Соответственно при низких температурах и большом внутреннем трении в аperiодическом режиме наблюдаются высокие частоты туннельных переходов. Однако с увеличением температуры и уменьшением вязкости их частота уменьшается, а  $P_{\text{open}}$  увеличивается до некоторого максимума. При дальнейшем повышении температуры канал переходит в режим затухающих колебаний вблизи минимума КП с достаточно большой вероятностью попадания в область пересечения ветвей. Частота туннельных переходов резко растет с соответствующим падением  $P_{\text{open}}$ . При высоких температурах с переходом канала в режим слабозатухающих колебаний частоты туннельных переходов  $oO^* \leftrightarrow cO^{**}$  в обе стороны выравниваются, следовательно,  $P_{\text{open}}$  слабо растет, а  $\langle t_{\text{close}} \rangle$  уменьшается.

Интересно, что небольшое (4%) уменьшение энергии активации внутренней вязкости  $E_{\Gamma}$  приводит к существенному ( $\sim 10\text{--}15^{\circ}\text{C}$ ) сдвигу всех кривых (штриховые линии на рис. 4–6) в сторону меньших температур без заметного изменения их формы. В то же время небольшое (2%) уменьшение параметра ЭК-связи  $a$  практически не меняет  $D_{\text{max}}$ , но ведет к существенному понижению амплитуды  $P_{\text{open}}$  и  $\langle t_{\text{open}} \rangle$  (пунктирные линии на рис. 4–6) без заметного изменения как формы кривых, так и характера температурной зависимости. Очевидно, что именно величина и температурная зависимость внут-



**Рис. 6.** Температурные зависимости  $\langle t_{\text{open}} \rangle$  и  $\langle t_{\text{close}} \rangle$  для RyR-канала. Точки – экспериментальные данные [6], кривые – результаты моделирования в рамках ЭК-модели (см. подробности в тексте).

ренней вязкости в первую очередь влияют на положение и особенности физиологического режима температур, тогда как параметр ЭК-связи определяет величину температурных эффектов, в частности значения параметров  $Q_{10}$ . Интересно, что двукратное уменьшение вероятности электронного перехода  $cC \rightarrow oC$  до  $P(cC \rightarrow oC) = 0,014 \text{ мс}^{-1}$  (см. штрих-пунктирные линии на рис. 4–6) приводит всего лишь к относительно небольшому понижению амплитуды  $P_{\text{open}}$  и к вполне ожидаемым эффектам для средних времен пребывания канала в открытом и закрытом состояниях:  $\langle t_{\text{open}} \rangle$  практически не меняется, а  $\langle t_{\text{close}} \rangle$  увеличивается в два раза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами показано, что простая ЭК-модель с учетом аррениусовского характера температурной зависимости «внутренней» и «внешней» вяз-



кости, а также специфической «термочувствительности» туннельного перехода «открытие ↔ закрытие» способна дать не только качественное, но и количественное описание температурных эффектов для изолированных RyR-каналов. Результаты работы открывают перспективы описания температурных эффектов для кластеров взаимодействующих RyR-каналов в модели Ca<sup>2+</sup>-высвобождающих единиц и исследовать на молекулярном уровне влияние изменения температуры на процессы высвобождения Ca<sup>2+</sup> из CP и, в частности, на частоту и амплитуду спонтанных локальных кальциевых высвобождений (Ca<sup>2+</sup>-спарков).

К сожалению, возможности дальнейшего развития модели, в частности определения численных величин параметров, существенно сдерживаются ограниченностью набора имеющихся достоверных экспериментальных данных.

В заключение отметим существенное отличие рассматриваемого механизма конформационного преобразования от термофлуктуационного механизма Крамерса [31]. В области физиологических температур основной температурный эффект может определяться только особенностями поведения внутреннего трения без заметной роли термофлуктуаций.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проекты № 1437 и № 2725, разработка ЭК-модели) и Российского научного фонда (проект №14-35-00005, моделирование температурных эффектов в RyR-каналах).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. R. H. Shutt and S. E. Howlet, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **295**, C692 (2008).
2. H. A. Shiels, M. Vornanen, and A. P. Farrell, *J. Exp. Biol.* **203**, 2771 (2000).
3. T. J. Allen and G. Mikala, *Pflugers Arch.* **436** (2), 238 (1998).
4. T. J. Allen, *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **7** (4), 307 (1996).
5. C. L. Elias, X. H. Xue, C. R. Marshall, et al., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **281**, C993 (2001).
6. R. Sitsapesan, R. A. Montgomery, K. T. MacLeod, and A. J. Williams, *J. Physiol.* **434**, 469 (1991).
7. D. E. Clapham, *Nature* **426**, 517 (2003).
8. D. E. Clapham and C. Miller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108** (49), 19492 (2011).
9. F. Van Petegem, *J. Biol. Chem.* **287** (38), 31624 (2012).
10. S. Györke and C. Carnes, *Pharmacol. Ther.* **119**, 340 (2008).
11. A. S. Moskvin, M. P. Philipiev, O. E. Solovyova, et al., *Dokl. Biochem. Biophys.* **400**, 32 (2005).
12. A. S. Moskvin, M. P. Philipiev, O. E. Solovyova, et al., *J. Phys. Conf. Ser.* **21**, 195 (2005).
13. A. S. Moskvin, M. P. Philipiev, O. E. Solovyova, et al., *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **90**, 88 (2006).
14. L. A. Irvine, M. S. Jafri, and R. L. Winslow, *Biophys. J.* **76**, 1868 (1999).
15. A. Jara-Oseguera and L. D. Islas, *Biophys. J.* **104**, 2160 (2013).
16. А.С. Москвин, Б. Я. Япаров, А. М. Рывкин и др., *Письма в ЖЭТФ* **102**, 67 (2015).
17. D. M. Bers, *Nature* **415**, 198 (2002).
18. D. Colquhoun and A. G. Hawkes, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **300**, 1 (1982).
19. F. Qin, A. Auerbach, and F. Sachs, *Proc Biol Sci.* **264** (1380), 375 (1997).
20. K. Koshino and T. Ogawa, *J. Luminesc.* **87–89**, 642 (2000).
21. N. Nagaosa and T. Ogawa, *Phys. Rev. B* **39**, 4472 (1989).
22. A. S. Moskvin, A. M. Ryvkin, O. E. Solovyova and V.S. Markhasin, *JETP Lett.* **93**, 403 (2011).
23. A. M. Ryvkin, A. S. Moskvin, O. E. Solovyova and V. S. Markhasin, *Dokl. Biol. Sci.* **444**, 162 (2012).
24. М. П. Филиппев, Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук (Екатеринбург, 2007).
25. А. М. Рывкин, Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук (Пушино, 2014).
26. А. М. Рывкин, Н. М. Зорин, А. С. Москвин и др., *Биофизика* **60** (6), 1138 (2015).
27. D. Bers, *Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force* (Series in Developments in Cardiovascular Medicine, vol. 237) (Springer Science Business Media, 2001).
28. W. T. Coffey, Yu. P. Kalmykov, and J. T. Waldron, *The Langevin Equation*, 3<sup>rd</sup> ed. World Scientific Series in Contemporary Chemical Physics (2012).
29. A. Ansari, C. Jones, E. Henry, and J. Hofrichter, *Science* **256**, 1796 (1992).
30. S. J. Hagen, *Curr. Prot. Pept. Sci.* **11**, 385–395 (2010).
31. H. A. Kramers, *Physica (Utrecht)* **7**, 284 (1940).

## Temperature Effect on the Cardiac Ryanodine Receptor Gating and Conductance: Mathematical Modelling

A.S. Moskvina\*, B.I. Iaparov\*, A.M. Ryvkin\* \*\*, and O.E. Solovyova\* \*\*

*\*Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin,  
ul. Mira 19, Yekaterinburg, 620002 Russia*

*\*\*Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences,  
Pervomayskaya ul. 106, Yekaterinburg, 620049 Russia*

The temperature effect on the cardiac ryanodine receptor function has been studied within the electron-conformational model. It is shown that simple electron-conformational model with the Arrhenius like temperature dependence of “internal” and “external” frictions and specific “thermo-sensitivity” of the tunnelling “open  $\leftrightarrow$  close” transitions can provide both qualitative and quantitative description of the temperature effects for isolated ryanodine receptors. The potential of the model was illustrated by explaining the experimental data on the temperature dependence of sheep’s isolated cardiac ryanodine receptor gating and conductance (R. Sitsapasan et al., J. Physiol. (1991), **434**, 469).

*Key words: ryanodine receptor, temperature, electron-conformational model, mathematical modeling*