===МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ==

Модификация моделей динамики кальция в

астроцитах рианодиновым путём высвобождения Фрицлер Я. В.¹, Барцев С. И.², Белозор О. С.³, Шуваев Ант. Н.³, Шуваев Анд. Н.^{1*}

 ¹ Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия
 ² Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия
 ³ Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

Аннотация. В работе было исследовано влияние рианодинового пути высвобождения кальция из ЭПР на динамику цитозольного кальция в астроцитах. За основу была взята модель, разработанная Де Питта с соавторами (DeP). И в неё были добавлены уравнения для рианодиновых рецепторов и потенциалзависимых кальциевых каналов. Полученная модель показала значительно больший диапазон прогнозов: получен спектр частот спонтанных колебаний цитозольного кальция (которых нет во взятой за основу модели с представленным набором парамеров), как для оригинальной модели DeP, так и для основных существующих моделей динамики кальция в астроците. Показано, что с добавленными уравнениями, из изначальной модели DeP можно получить результаты других моделей, в частности модели, разработанные Лаврентовичем и Хемкиным или Дюпонтом с соавт.

Отстутствие спонтанных колебаний цитозольного кальция при активных рианодиновых каналах, как заявлено в ряде недавних экспериментов, также можно получить из представленной модели. В работе исследованы параметры, отвечающие за переключение режимов динамики цитозольного кальция в астроцитах. Также была изучена взаимосвязь спонтанных колебаний и колебаний, вызываемых глутаматным стимулом. Показано, что в зависимости от интенсивности оттока кальция из цитозоля, глутаматное раздражение может вызывать прерывание спонтанных колебаний, либо их полное «отключение».

Ключевые слова: кальций-индуцированное высвобождение кальция, CICR, астроцит, рианодиновый рецептор, математическая модель.

введение

Астроциты являются мощными регуляторами активности нейронов, синаптической пластичности и мозгового кровотока [1]. Так как это невозбудимый тип клеток, основным регуляторным фактором в клетке являются каскады реакций, вызываемые механизмами активации рецепторов. Для астроцита одним из наиболее значимых типов таких рецепторов являются глутаматные со вторичным посредником в виде ионов кальция. Ионы Ca^{2+} поступают в цитозоль либо из внеклеточного пространства, либо из внутриклеточных хранилищ через инозитол-трифосфатный (IP3R) и/или рианодиновый каналы. Недавние исследования выявили значительную интенсивность высвобождения Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума (ЭПР) у IP3R-КО мышей [2], где IP3R-путь высвобождения был ослаблен блокированием одного из трех типов IP3 рецепторов,

^{*}AShuvaev@sfu-kras.ru

IP3R2. Эти данные указывают на то, что существующие два пути высвобождения кальция, IP3R и RyR, действуют независимо друг от друга.

Путь IP3R хорошо изучен к сегодняшнему дню и его модели созданы для различных типов клеток [3, 4]. В то же время, вовлечение рианодиновых каналов в сигнальную Ca^{2+} регуляцию астроцитов неясно [5]. В работе [6] было заявлено, что RyR не имеет значительного влияния на динамику кальция в астроцитах при стимуляции кофеином. Спонтанные колебания кальция в астроцитах так же не подвержены влиянию рианодина [7]. В то же время, есть свидетельства, что рианодиновый путь высвобождения существует в астроцитах и он может быть активирован сильным раздражением или при патологических состояниях [8]. В настоящем исследовании была взята за основу существующая модель динамики кальция в астроцитах для исследования влияния рианодинового пути высвобождения на кальциевую регуляцию поведения астроцита.

Детальные обзоры кальциевой регуляции были опубликованы в ряде недавних работ Маннине с соавт. [9, 10, 11]. Не смотря на большое разнообразие подходов к моделированию, включенных в эти обзоры, было показано, что все эти модели основаны на ограниченном числе базовых моделей. В частности, в качестве основных базовых моделей динамики кальция в астроцитах, в обзоре [9] были выбраны: модель Лаврентовича и Хемкина [12] (LH), Риэйры с соавт. [13, 14], Де Питта с соавт. [15] (DeP) и Дюронта с соавт. [16] (Dup). Первые две модели предсказывают спонтанные колебания цитозольного кальция без глутаматного внешнего стимула. Модель DeP хорошо предсказывает отклик на глутаматный стимул, однако она не воспроизводит спонтанные колебания (по крайней мере при заявленных параметрах, имеющих биологическое обоснование). Модель Dup может воспроизводить как спонтанные колебания, так и глутаматную стимуляцию. Однако, как было показано в обзоре [9], прогнозы этой модели спорны по отношению к варьированию силы глутаматного стимула.

Неопределенность в роли RyR-пути в астроцитах возможно определяют тот факт, что этот путь не включен в существующие модели динамики кальция (указанные в обзоре [10]). Для высвобождения кальция из внутриклеточных хранилищ в настоящей парадигме создания соответствующих моделей, используется только поток из IP3R. Известна лишь одна модель пространственно-временной динамики внутриклеточного кальция, включающая интегральный поток из хранилища IP3R+RyR [17], однако она не позволяет исследовать отдельное поведение этих каналов.

Для того, чтобы исследовать влияние потока RyR на динамику внутриклеточного кальция в астроцитах, в данной работе за основу была взята одна из существующих моделей, DeP [15]. К ней были добавлены уравнения для рианодиновых каналов. Также были добавлены уравнения для потенциал-зависимых кальциевых каналов (VGCC), как возможный важный фактор, влияющий как на динамику кальция, так и для изучения влияния баланса притока (через VGCC) и оттока (через помпу PMCA) на динамику цитозольного кальция. Полученная модель демонстрирует различные типы поведения цитозольного кальция, которые можно получить варьированием всего нескольких параметров. Основную роль в этом играют скорость притока Ca^{2+} из внутренних хранилищ через RyR – V_{RyR} и интенсивность выброса кальция в межклеточное пространство – V_{PMCA} .

МОДЕЛЬ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ДИНАМИКИ КАЛЬЦИЯ

Модель включает четыре потока кальция в цитозоль (рис. 1): из внеклеточного пространства через VGCC и из ЭПР через каналы IP3R и RyR, плюс поток постоянной подтечки. Удаление кальция происходит через энергозатратные помпы PMCA и SERCA. Путь mGluR использован для глутаматной стимуляции внутриклеточного синтеза IP3.

ФРИЦЛЕР и др.

Для удобства записи была определена функция Хилла: $Hill(a, b, n) = a^n / (a^n + b^n)$.

Также в модель не включалась регуляция цитозольного кальция через накопление его в митохондриях. Это упрощение сделано из-за пренебрежимо малой скорости потока цитозоль-митохондрия при концентрациях цитозольного кальция порядка единиц микромоль. Для сравнимой с другими потоками скорости (микромоли в секунду) нужна концентрация в сотни микромоль [18]. Это может быть локально достижимо при моделировании пространственной динамики, что в данной модели не делалось.



Рис. 1. Основная схема модифицированной модели DeP. Оригинальная модель DeP дополнена двумя потоками Ca²⁺: из ЭПР в цитозоль (J_{RyR}) и потоком через VGCC (J_{VGCC}) .

Моделирование VGCC

Уравнения из [19] использовались для моделирования следующих типов потенциалзависимых кальциевых каналов: CaT, CaN, CaL, CaR. Каналы CaT имели отдельные уравнения для медленного (CaTs) и быстрого (CaTf) типов.

Переменные каналов описывались следующей системой ОДУ:

$$\dot{m}_{CaT} = \left(\bar{m}_{CaT}(V) - m_{CaT} \right) / \tau_{m_{CaT}}(V)$$

$$\dot{h}_{CaTs} = \left(\bar{h}_{CaT}(V) - h_{CaTs} \right) / \tau_{h_{CaTs}}(V)$$

$$\dot{h}_{CaTf} = \left(\bar{h}_{CaT}(V) - h_{CaTf} \right) / \tau_{h_{CaTf}}(V)$$

$$\dot{m}_{CaL} = \left(\bar{m}_{CaL}(V) - m_{CaL} \right) / \tau_{m_{CaL}}(V)$$

$$\dot{m}_{CaR} = \left(\bar{m}_{CaR}(V) - m_{CaR} \right) / \tau_{m_{CaR}}(V)$$

$$\dot{h}_{CaR} = \left(\bar{m}_{CaR}(V) - m_{CaR} \right) / \tau_{m_{CaR}}(V)$$

$$\dot{h}_{CaR} = \left(\bar{h}_{CaR}(V) - m_{CaR} \right) / \tau_{m_{CaR}}(V)$$

$$\dot{h}_{CaR} = \left(\bar{h}_{CaR}(V) - h_{CaR} \right) / \tau_{m_{CaR}}(V)$$

где функции $\bar{m}(V)$, $\bar{h}(V)$ и $\tau(V)$ брались из оригинальной статьи.

| Параметр | Определение | Значение | Единицы | |
|---------------------------|---|-------------|-------------|--|
| β | Отношение объемов цитозоля и ЭПР | 0.185 | _ | |
| r_C | Максимальная скорость CICR | 6.0 | [1/c] | |
| Динамика Са ²⁺ | | | | |
| K_{SERCA} | Сродство SERCA к Са ²⁺ | 0.10 | $[\mu M]$ | |
| V_{SERCA} | Макс. скорость SERCA | 0.90 | $[\mu M/c]$ | |
| r_L | Макс. скорость подтечки Ca ²⁺ из ЭПР | 0.11 | [1/] | |
| K_{PMCA} | Сродство РМСА к Са ²⁺ | 0.12 | $[\mu M]$ | |
| V _{PMCA} | Макс. скорость РМСА | 0.05 - 0.07 | $[\mu M/c]$ | |
| Динамика IP3 и IP3R | | | | |
| a_2 | Скорость связывания IP3R с Ca^{2+} | 0.20 | [1/c] | |
| d_1 | IP3-константа диссоциации | 0.13 | $[\mu M]$ | |
| d_3 | IP3-константа диссоциации | 0.943 | $[\mu M]$ | |
| d_2 | Ca ²⁺ -константа инактивации диссоциации | 1.05 | $[\mu M]$ | |
| d_5 | Ca ²⁺ -константа активации диссоциации | 0.0823 | $[\mu M]$ | |
| k_{δ} | Константа ингибирования активности PLC5 | 1.50 | $[\mu M]$ | |
| K_3 | Сродство ІРЗ к ІРЗ-ЗК | 1.0 | $[\mu M]$ | |
| K_{π} | Сродство Са ²⁺ к РКС | 0.60 | $[\mu M]$ | |
| K_D | Сродство Са ²⁺ к IP3-3К | 0.70 | $[\mu M]$ | |
| K_p | Са ²⁺ /РКС-зависимый ингибирующий фактор | 10.0 | $[\mu M]$ | |
| $K_{PLC\delta}$ | Сродство Са ²⁺ к РLСб | 0.10 | $[\mu M]$ | |
| K_R | Сродство mGluR к глутамату | 1.30 | $[\mu M]$ | |
| \bar{r}_{5P} | Макс. скорость деградации IP3 через IP3-5P | 0.04 | [1/c] | |
| \bar{r}_{3K} | Макс. скорость деградации IP3 через IP3-3К | 2.0 | $[\mu M/c]$ | |
| \bar{v}_{β} | Макс. скорость синтеза IP3 через PLC β | 0.20 | $[\mu M/c]$ | |
| \bar{v}_{δ} | Макс. скорость синтеза IP3 через PLC6 | 0.02 | $[\mu M/c]$ | |

Таблица 1. Параметры модели

ФРИЦЛЕР и др.

| Параметр | Определение | Значение | Единицы | | |
|------------------|---|----------|-------------------------|--|--|
| Динамика RyR | | | | | |
| k_a^+ | Константа скорости C1 $ ightarrow$ O1 | 1500 | $[1/(\mu M^4 \cdot c)]$ | | |
| k_a^- | Константа скорости $\mathrm{O1} ightarrow \mathrm{C1}$ | 28.8 | [1/c] | | |
| k_b^+ | Константа скорости $\mathrm{O1} ightarrow \mathrm{O2}$ | 1500 | $[1/(\mu M^3 \cdot c)]$ | | |
| k_b^- | Константа скорости $\mathrm{O2} ightarrow \mathrm{O1}$ | 385.9 | [1/c] | | |
| k_c^+ | Константа скорости $\mathrm{O1} ightarrow \mathrm{C2}$ | 1.75 | [1/c] | | |
| k_c^- | Константа скорости C2 $ ightarrow$ O1 | 0.10 | [1/c] | | |
| n_{RyR} | Число молекул Ca^{2+} для перехода $\mathrm{C1} \to \mathrm{O1}$ | 4 | - | | |
| m_{RyR} | Число молекул Ca^{2+} для перехода $\mathrm{O1} \rightarrow \mathrm{O2}$ | 3 | _ | | |
| V _{RyR} | Макс. скорость для потока RyR | 10 - 50 | [1/c] | | |
| Динамика VGCC | | | | | |
| T_{kelv} | Температура | 300 | K | | |
| C_{ext} | Концентрация внеклеточного Ca ²⁺ | 1500 | $[\mu M]$ | | |
| F | Постоянная Фарадея | 96485 | [Кл/М] | | |
| \bar{g}_{CaT} | Проводимость Ca ²⁺ каналов Т-типа | 0.06 | [пСм] | | |
| \bar{g}_{CaL} | Проводимость Ca ²⁺ каналов L-типа | 3.50 | [пСм] | | |
| \bar{g}_{CaN} | Проводимость Ca ²⁺ каналов N-типа | 0.39 | [пСм] | | |
| \bar{g}_{CaR} | Проводимость Ca ²⁺ каналов R-типа | 0.22 | [пСм] | | |

Таблица 1. Продолжение Таблицы 1

Итоговый поток кальция через VGCC вычислялся как:

$$J_{VGCC} = -(I_{CaT} + I_{CaL} + I_{CaN} + I_{CaR}) \cdot 10^4 / (zF),$$
(2)

где

$$I_{CaT} = \bar{g}_{CaT} \cdot m_{CaT} \left(h_{CaTf} + 0.04 h_{CaTs} \right) \left(V - E_{Ca} \right)$$
(3)

$$I_{CaL} = \bar{g}_{CaL} \cdot m_{CaL} \cdot Hill (4.5 \cdot 10^{-4}, C_{cyt}, 1) \left(V - E_{Ca} \right)$$
(3)

$$I_{CaN} = \bar{g}_{CaN} \cdot m_{CaN} \cdot Hill (10^{-4}, C_{cyt}, 1) \left(V - E_{Ca} \right)$$
(3)

$$I_{CaR} = \bar{g}_{CaR} \cdot m_{CaR} \cdot h_{CaR} \left(V - E_{Ca} \right)$$
{ $E_{Ca} = 8.31 \cdot 10^{-3} \cdot T_{kelv} / (2F) \cdot \ln(C_{ext} / C_{cyt})$ },

аz=2- заряд иона кальция.

Моделирование RyR

Для описания каналов RyR использовалась марковская модель Кайзера и Левина [20], с двумя открытыми (О1 и О2), и двумя закрытыми (С1 и С2) состояниями канала. Вероятности этих состояний задаются системой уравнений:

 $\dot{P}_{C1} = k_a^- \cdot P_{O1} - k_a^+ \cdot C_{cyt}^{n_{RyR}} \cdot P_{C1}$ $\dot{P}_{O1} = k_a^+ \cdot C_{cyt}^{n_{RyR}} \cdot P_{C1} - k_a^- \cdot P_{O1} - k_b^+ \cdot C_{cyt}^{m_{RyR}} \cdot P_{O1} + k_b^- \cdot P_{O2} - k_c^+ \cdot P_{O1} + k_c^- \cdot P_{C2}$ $\dot{P}_{O2} = k_b^+ \cdot C_{cyt}^{m_{RyR}} \cdot P_{O1} - k_b^- \cdot P_{O2}$ $P_{C2} = 1 - P_{C1} - P_{O1} - P_{O2}$ (4)

Итоговый поток через канал вычисляется как:

$$J_{RyR} = (P_{O1} + P_{O2}) \cdot V_{RyR} \cdot (C_{ER} - C_{cyt})$$
(5)

Моделирование IP3 и IP3R

Использовались уравнения из модели DeP [15] и Полити с соавт. [21] для моделирования IP3:

$$\dot{I} = IP3_{prod} - IP3_{deq}, \tag{6}$$

где $IP3_{prod} = J_{\beta} + J_{\delta}$ и $IP3_{deg} = J_{5P} + J_{3K}$ описывают синтез и распад молекулы IP3 соответственно. Синтез вычислялся как сумма синтезов IP3 фосфолипазой С β (глутамат-зависимый путь) и фосфолипазой С δ (глутамат-независимый путь):

$$J_{\beta} = \bar{v}_{\beta} \cdot Hill([Glu], K_R \cdot (1 + K_p/K_R \cdot Hill(C_{cyt}, K_{pi}, 1)), 0.7)$$
(7)
$$J_{\delta} = \bar{v}_{\delta}/(1 + I/k_{\delta}) \cdot Hill(C_{cyt}, K_{PLC\delta}, 2)$$

Значения в уравнении для распада — IP3-зависимый распад с участием инозитол-полифосфата 5-фосфатазы (5*P*) и Ca²⁺ и IP3-зависимый распад с участием IP3 3-киназы (3*K*):

$$J_{5P} = \bar{r}_{5P} \cdot I$$

$$J_{3K} = \bar{r}_{3K} \cdot Hill(C_{cyt}, K_D, 4) \cdot Hill(I, K_3, 1)$$
(8)

Поведение IP3R моделировалось по динамике Ходжкина-Хаксли:

$$\dot{h}_i = (h_\infty - h_i)/\tau_h. \tag{9}$$

Здесь

$$h_{\infty} = Q^2/(Q^2 + C_{cyt})$$

$$\tau_h = 1/(a_2 \cdot (Q^2 + C_{cyt})) \qquad \{Q^2 = d_2 \cdot (I + d_1)/(I + d_3)\}$$
(10)

Итоговый поток через IP3R описывался уравнением:

$$J_{IP3R} = r_C \cdot m_\infty^3 \cdot n_\infty^3 \cdot h_i^3 \cdot (C_{ER} - C_{cyt}), \qquad (11)$$

Математическая биология и биоинформатика. 2021. Т. 16.№ 1. doi: 10.17537/2021.16.86

где

$$m_{\infty} = Hill(I, d_1, 1)$$

$$n_{\infty} = Hill(C_{cut}, d_5, 1)$$
(12)

относятся к переменным канала.

Моделирование кальция

Для описания динамики кальция использовались модифицированные уравнения из DeP [15]:

$$\dot{C}_{cyt} = J_{IP3R} + J_{leak} - J_{SERCA} - J_{PMCA} + J_{VGCC} + J_{RyR}$$

$$\dot{C}_{ER} = (1/\beta) \left(J_{SERCA} - J_{IP3R} - J_{leak} - J_{RyR} \right)$$
(13)

где

$$J_{leak} = r_L \cdot (C_{ER} - C_{cyt})$$

$$J_{SERCA} = V_{SERCA} \cdot Hill(C_{cyt}, K_{SERCA}, 2)$$

$$J_{PMCA} = V_{PMCA} \cdot Hill(C_{cyt}, K_{PMCA}, 2)$$
(14)

Начальные значения были взяты такими же, как и в оригинальной модели DeP: $Ca_{cyt}(0) = 0.09[\mu M], h_i(0) = 0.79, I(0) = 0.16\mu M$. Начальная концентрация кальция в ЭПР была задана как $Ca_{ER}(0) = 2.00\mu M$. Для переменных состояния каналов VGCC и RyR выбирались равными 1 для закрытых состояний и 0 для открытых.

Решение систем ОДУ выполнялось в Python 3 методом LSODA, включенным в функцию odeint библиотеки scipy. Относительная точность интегрирования бралась предлагаемая odeint по умолчанию, $1.49 \cdot 10^{-8}$.

В итоге были проанализированы три вариации полученной модифицированной модели с включением/выключением трех потоков Ca^{2+} в/из цитозоля. Модификация $(J_{RyR} > 0, J_{IP3R} > 0)$ означает активированные потоки высвобождения Ca^{2+} из ЭПР. Остальные две модификации — с выключенным одним из потоков: с деактивированным путем RyR $(J_{RyR} = 0, J_{IP3R} > 0)$ и деактивированным путем IP3R $(J_{RyR} > 0, J_{IP3R} = 0)$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнение модифицированной модели с существующими

Модифицированная модель DeP с рианодиновым потоком Ca^{2+} ($J_{RyR} > 0, J_{IP3R} > 0$) демонстрирует спонтанные колебания без глутаматного стимула. Эти колебания имеют тот же характер, какой пронозируется моделью LH (рис. 2,A) при варьировании всего трех параметров: V_{ER}, V_{PMCA} и V_{RyR} . Для потока через SERCA использовалось значение V_{ER} в 1.9 раз выше, чем в оригинальной модели DeP. В то же время, это значение значительно ниже, чем в модели LH – $v_{M2} = 15[\mu M/c]$, при котором эта модель дает ту же частоту колебаний. Амплитуда колебаний цитозольного Ca^{2+} при этом в два раза выше в модифицированной модели DeP. Другие два параметра варьировались произвольно. Их значения, дающие сходное поведение с результатами модели LH были: $V_{PMCA} = 0.06[\mu M/c], V_{RyR} = 43[1/c]$.

Модель Dup прогнозирует более частые спонтанные колебания с набором параметров, данных в их исследовании. Это поведение удалось достичь в модифицированной модели DeP (рис. 2,B) изменением следующих оригинальных параметров (см. таб. 1) до значений: $K_{PMCA} = 0.29 \ [\mu M], V_{PMCA} = 0.05 \ [\mu M/s], V_{ER} = 9.0 \ [\mu M/s], V_{RyR} = 20 \ [1/s], K_{ER} = 0.05 \ [\mu M/s]$

МОДИФИКАЦИЯ МОДЕЛЕЙ ДИНАМИКИ КАЛЬЦИЯ В АСТРОЦИТАХ



Рис. 2. Сравнение результатов моделирования динамики концентрации цитозольного Ca^{2+} по модифицированной модели DeP ($J_{RyR} > 0, J_{IP3R} > 0$) с прогнозами по моделям LH, Dup и оригинальной DeP. А и В — модификация оригинальной модели DeP приводит к возникновению спонтанных колебаний цитозольного Ca^{2+} . Все параметры имеют значения, представленные в таблице 1, кроме значений упомянутых в этом описании. (А) Изменение оригинального значения помпы SERCA в модели DeP $V_{ER} \rightarrow 1.9 \cdot V_{ER}$, вместе с $V_{PMCA} = 0.06 \ [\mu M/c]$ и $V_{RuR} = 43 \ [1/c]$ даёт результат в виде такой же частоты спонтанных колебаний, как в модели LH. (В) «Высокочастотная» модель Dup может быть получена в модифицированной модели DeP заданием следующих значений параметров: $K_{PMCA} = 0.29 \ [\mu M], \ V_{PMCA} = 0.05 \ [\mu M/c], \ V_{ER} = 9.0 \ [\mu M/c],$ $V_{RuR} = 20 [1/c], K_{ER} = 0.4 [\mu M].$ С и D — прогноз моделей на три глутаматных импульса. (С) Задана «низкая» концентрация глутамата $[Glu] = 3 [\mu M]$. Все три модели прогнозируют одинаковую амплитуду колебаний. Модифицированная модель DeP и модель Dup прогнозируют снижение амплитуды спонтанных колебаний при наложении глутаматного импульса. (**D**) Задана «высокая» концентрация глутамата $[Glu] = 10 \ [\mu M]$. И в оригинальной, и в модифицированной модели DeP, осцилляции цитозольного Ca^{2+} ослабляются после глутаматного импульса. Модель Dup даёт полное выключение колебаний на время наложения глутаматного импульса.

0.4 [µ*M*] (как в модели Dup). Амплитуды этих колебаний также оказались сравнимыми.

Прогноз модели ($J_{RyR} > 0, J_{IP3R} > 0$) на слабый глутаматный триггер (3 μM) был схож у моделей Dup и оригинальной DeP (рис. 2,C). Последняя демонстрирует волны цитозольного Ca^{2+} с амплитудой 0.6 [μM] без явного ослабления колебаний, вызванных импульсом, на данной продолжительности глутаматного импульса. Однако, при более сильном импульсе (рис. 2,D), оригинальная модель DeP демонстрирует затухание колебаний при такой же начальной амплитуде, как и при слабом импульсе. Модель Dup, как указывается Маннинен с соавт., имеет сравнимые результаты моделирования цитозольного Ca^{2+} только для слабого глутаматного импульса. При концентрации глутамата 3 [μM] она показывает затухание вызванных «глутаматных» колебаний (наряду с присутствием спонтанных) со сравнимой с оригинальной моделью DeP начальной

амплитудой. Тем не менее, «глутаматные» колебания в модели Dup полностью исчезают при стильном глутаматном импульсе.

Модифицированная модель DeP ($J_{RyR} > 0, J_{IP3R} > 0$) имеет непротиворечивые результаты и при слабом, и при сильном импульсах. Усиление импульса приводит к возрастанию частоты глутамат-зависимых колебаний. Затухание колебаний при этом повторяет результаты оригинальной модели DeP. Глутамат-зависимые колебания изменяют характер спонтанных сразу после окончания глутаматного импульса, что не является таковым для модели Dup. Взаимовлияние глутамат-зависимых и спонтанных колебаний цитозольного Ca^{2+} в модифицированнной модели DeP будет исследовано ниже.

Спонтанные колебания в модифицированной модели DeP

Сообщалось [7], что спонтанные колебания Ca^{2+} не определяются в астроцитах, когда активирован единственный путь высвобождения кальция из внутриклеточных депо через каналы RyR. Авторы делают вывод о том, что RyR не оказывает влияния на эти колебания при отсутствии потока через IP3R. Такое поведение можно получить при высокой скорости удаления Ca^{2+} из цитозоля во внеклеточное пространство, которая задается усилением помпы РМСА в модификации ($J_{RyR} > 0$, $J_{IP3R} = 0$). В этом случае есть только три потока Ca^{2+} в/из цитозоля: приток из ЭПР через RyR и оттоки через помпы SERCA и РМСА.



Рис. 3. Прогноз спонтанных колебаний модели $J_{RyR} > 0$, $J_{IP3R} = 0$. (A) Отток Ca^{2+} из цитозоля через помпу РМСА пошагово увеличивается. При больших значений оттока колебания исчезают. (B) Такое же пошаговое увеличение оттока через помпу SERCA даёт постепенное снижение частоты спонтанных колебаний цитозольного Ca^{2+} без их исчезновения.

При фиксированной скорости помпы SERCA, увеличение оттока Ca^{2+} через РМСА приводит к уменьшению частоты колебаний (рис. 3,А). При определенном значении

этого оттока, колебания вовсе исчезают. Такое поведение может быть результатом взаимосвязи удаления Ca^{2+} из цитоплазмы и компенсации этого удаления потоком Ca^{2+} из внутреннего депо. Если отсутствует глутаматный ипмульс, эта компенсация осуществляется только каналами RyR.

Для исследования точки бифуркации между колебательным и неколебательным поведением, была вычислена частота колебаний цитозольного Ca^{2+} как функция скоростей притока и оттока (рис. 4). Результаты показывают, что исчезновение колебаний происходит в широком диапазоне значений скоростей притока Ca^{2+} в цитозоль V_{RyR} , если вместе с ним задана достаточно быстрая скорость оттока РМСА V_{PMCA} . Для данных скоростей, отношения V_{PMCA}/V_{RyR} , определяющие точку исчезновения колебаний, находятся в пределах значений между $\frac{0.070 \ [\mu M/s]}{50 \ [1/c]} = 1.4 \cdot 10^{-3} \ [\mu M]$ и $\frac{0.051 \ [\mu M/s]}{18 \ [1/c]} = 2.8 \cdot 10^{-3} \ [\mu M]$.



Рис. 4. Переход от колебательного к неколебательному поведению в модели $J_{RyR} > 0$, $J_{IP3R} = 0$, как результат взаимосвязи притока Ca^{2+} из ЭПР через каналы RyR и удаления Ca^{2+} из клетки через помпу РМСА.

При фиксированной скорости РМСА, усиление помпы SERCA вызывает постепенное снижение частоты колебаний и увеличение их амплитуды (рис. 3,В). Отсутствие неколебательного поведения при интенсивной помпе SERCA можно объяснить тем фактом, что Ca^{2+} остаётся внутри клетки и возвращается в цитозоль через каналы RyR. Если интенсифицировать помпу РМСА, то удаление будет полным без компенсации притока извне через каналы VGCC.

В то же время, модифицированная модель DeP с блокированным потоком $RyR(J_{RyR} = 0, J_{IP3R} > 0)$ с параметрами, данными в таблице 1, не может предсказать спонтанные колебания даже в нефизиологических условиях постоянной глутаматной стимуляции. Таким образом, именно модель RyR+IP3R даёт прогноз, близкий к физиологическому поведению.

Глутаматное стимулирование

Как упоминалось ранее, в оригинальной модели DeP отсутствуют спонтанные колебания (по крайней мере при значениях параметров, заданных в оригинальном

исследовании). Это не позволяет исследовать взаимосвязь между колебаниями Ca^{2+} от глутаматного стимулирования и спонтанных. Наша модификация (где сохранены значения параметров из оригинальной модели DeP) позволяет включить поведение со спонтанными колебаниями в оригинальную модель DeP.

Влияние глутамата вызывает ещё один тип колебаний цитозольного Ca^{2+} с большей частотой, чем спонтанные. Это влияние приводит к прерыванию изначальных спонтанных колебаний (рис. 5). Это прерывание может иметь временный характер, если удаление Ca^{2+} из клетки невелико. Если же это удаление сильное, то глутамат-зависимые колебания могут оказаться единственным типом. Более того, если большой отток Ca^{2+} компенсируется большим притоком из ЭПР, глутамат-зависимые прерывания спонтанных колебаний могут вызвать полное исчезновение последних ($V_{PMCA} = 0.07 \ [\mu M/c], V_{RyR} = 35 \ [1/c]$ на рис. 5).



Рис. 5. Спонтанные колебания в модели (RyR > 0, IP3R > 0). При большом оттоке через РМСА, спонтанные колебания исчезают. Четыре глутаматных импульса порождают поток через каналы IP3R, что приводит к прерыванию спонтанных колебаний. Длительность стимулов 100 секунд.

Этот результат имеет возможным объяснением быстрое истощение внутриклеточного депо Ca^{2+} , вызванное высвобождением кальция через оба типа каналов, RyR и IP3R. Цитозольный Ca^{2+} удаляется в межклеточное пространство быстрее, чем «закачивается» обратно в ЭПР. Как следствие, кальций-индуцированное высвобождение кальция (CICR) становится невозможным без внешнего стимула.

Отток Ca^{2+} также влияет на длительность глутамат-зависимых колебаний. Большие значения V_{PMCA} (случаи с $V_{PMCA} = 0.07 \ [\mu M/c]$ на рис. 5) приводят к примерно вдвое более коротким по длительности колебаниям, чем при $V_{PMCA} = 0.05 \ [\mu M/c]$ для обеих скоростей высвобождения кальция через каналы RyR V_{RyR} 10 и 35 [1/c]. То есть, такое удаление Ca^{2+} не компенсируется усиленным притоком из ЭПР через RyR.

В добавок, была вычислена реакция различных модификаций модели DeP на глутаматное стимулирование. Исключение пути высвобождения через каналы RyR в модификации модели DeP ($J_{RyR} = 0, J_{IP3R} > 0$) приводило к отклику в виде практически

единственного пика (рис. 6). Тогда, как модификация ($J_{RyR} > 0, J_{IP3R} > 0$) давала серию волн с постепенно снижающейся амплитудой. Этот результат может свидетельствовать о необходимости включения как каналов RyR, так и VGCC в оригинальную модель DeP.



Рис. 6. Глутамат-зависимые колебания с и без притока Ca²⁺ в цитоплазму через каналы RyR. $V_{PMCA} = 0.07 \ [\mu M/c], V_{RyR} = 20 \ [1/c]$. Глутаматный стимул $[Glu] = 5 \ [\mu M]$ задан в промежутке от 1000 до 1100 секунд.

Как упоминалось ранее, модель Dup даёт неточные результаты в ответ на усиление глутаматного стимула. Для проверки возможной подобной неточности, модифицированная модель DeP была верифицирована на глутаматных стимулах различной силы. Уменьшение концентрации глутамата (рис. 7) вызывает соответствующее уменьшение частоты колебаний в модификации ($J_{IP3R} > 0, J_{RuR} > 0$). В то же время, было выявлено, что начальные амплитуды не зависят от силы глутаматного стимула. В не-RyR модификации ($J_{IP3R} > 0, J_{RyR} = 0$) однопиковый отклик постепенно исчезал по мере ослабления стимула до уровня отсутствия отклика при концентрациях в сотые μM .

ОБСУЖДЕНИЕ

Включение дополнительного пути высвобождения Ca^{2+} из ЭПР через рианодиновый канал в модель CICR в астроцитах приводит увеличению предсказательного потенциала, не смотря на усложнение начальной модели DeP. Эта модификация примиряет несколько существующих моделей динамики Ca^{2+} в астроцитах благодаря широкому диапазону возможных прогнозов поведения системы.

Модификация ($J_{RyR} > 0$, $J_{IP3R} = 0$) добавляет спонтанные колебания в оригинальную модель DeP. Частоту этих колебаний можно регулировать небольшим количеством параметров, в основном, скоростями помп. Быстрое удаление Ca^{2+} из цитозоля приводит к исчезновению спонтанных колебаний. Эо исчезновение согласуется с поведением, полученным в ряде экспериментов, где неколебательная динамика была получена при активированном канале RyR с ослаблением потока через каналы IP3R.

Было показано, что бифуркация между колебательным и неколебательным состояниями является результатом суммы притока-отттока Ca^{2+} в, из цитозоля. В



Рис. 7. Колебания цитозольного Ca²⁺, вызванные различными глутаматными стимулами. Каждый [Glu] стимул наложен в промежутке от 1000 до 1100 сек.

то же время, следует учесть, что в настоящей модели количество возможных кальциевых потоков было ограничено, согласно оригинальной модели DeP. Это может привести к более сложному определению точки бифуркации в случае рассмотрения более детальной динамики кальция, учитывающей дополнительные структуры, участвующие в кальциевой регуляции поведения астроцитов.

Комбинация спонтанных и глутамат-зависимых колебаний выявила короткий период заглушения спонтанных колебаний по окончании глутаматного стимула. Было обнаружено, что при относительно сильном оттоке Ca^{2+} , глутаматный импульс может вызвать остановку спонтанных колебаний. Этот довольно спорный результат нуждается в верификации на более детальной модели и в эксперименте.

Также, модификация ($J_{RyR} > 0$, $J_{IP3R} > 0$) воспроизводит такой же результат при глутаматном стимулировании, что и оригинальная модель DeP. В то же время, деактивированный путь высвобождения кальция через каналы RyR ($J_{RyR} = 0$, $J_{IP3R} > 0$) даёт в результате нефизиологичный однопиковый отклик. Это не соответствутет прогнозу по оригинальной DeP-модели. Это противоречие с высокой вероятностью является результатом наличия каналов VGCC в модификации, которые являются необходимым фактором для адекватного результата при включении пути RyR.

Основной целью данной работы было исследование пути RyR на Ca^{2+} -регуляцию в астроците. Поэтому, модель воспроизводит основные процессы со значительным уровнем упрощения. Однако, представленная модель может быть усложнена добавлением более детальных механизмов, таких как синтез диацилглицерола (DAG) или взаимодействия ORAI STIM. Также в модели применялось абсолютное блокирование установкой блокируемых потоков, равными 0. Это может быть изменено пр сравнении результатов моделирования с экспериментальными, где модель с неполной блокировкой может оказаться более адекватной.

Работа была выполнена благодаря гранту РФФИ 20-415-242905, предоставленному РФФИ совместно с Правительством Красноярского края и Красноярским краевым фондом науки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Bazargani N., Attwell D. Astrocyte calcium signaling: the third wave. *Nature Neuroscience*. 2016. V. 19. № 2. P. 182–189.
- 2. Okubo Y., Kanemaru K., Suzuki J., Kobayashi K., Hirose K., Iino M. Inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor type 2-independent Ca2+ release from the endoplasmic reticulum in astrocytes. *Glia*. 2019. V. 67. № 1. P. 113–124.
- 3. Siekmann I., Wagner L.I., Yule D., Crampin E.J, Sneyd J. A kinetic model for type I and II IP3R accounting for mode changes. *Biophysical Journal*. 2012. V. 103. № 4. P. 658–668.
- Shuai J., Pearson J.E., Foskett J.K., Mak D.-O. D., Parker I. A kinetic model of single and clustered IP3 receptors in the absence of Ca2+ feedback. *Biophysical Journal*. 2007. V. 93. № 4. P. 1151–1162.
- 5. Fiacco T.A., McCarthy K.D. Astrocyte calcium elevations: properties, propagation, and effects on brain signaling. *Glia*. 2006. V. 54. № 7. P. 676–690.
- 6. Beck A., Nieden R.Z., Schneider H.-P., Deitmer J.W. Calcium release from intracellular stores in rodent astrocytes and neurons in situ. *Cell Calcium*. 2004. V. 35. № 1. P. 47–58.
- 7. Parri H.R., Crunelli V. The role of Ca2+ in the generation of spontaneous astrocytic Ca2+ oscillations. *Neuroscience*. 2003. V. 120. № 4. P. 979–992.
- 8. Aley K.P., Murray J.H., Boyle J.P., Pearson H.A., Peers C. Hypoxia stimulates ca2+ release from intracellular stores in astrocytes via cyclic adp ribose-mediated activation of ryanodine receptors. *Cell Calcium*. 2006. V. 39. № 1. P. 95–100.
- 9. Manninen T., Havela R., Linne M.-L. Reproducibility and comparability of computational models for astrocyte calcium excitability. *Frontiers in Neuroinformatics*. 2017. V. 11. P. 11.
- 10. Manninen T., Havela R., Linne M.-L. Computational models for calcium-mediated astrocyte functions. *Frontiers in Computational Neuroscience*. 2018. V. 12. P. 14.
- 11. Manninen T., Saudargiene A., Linne M. L. Astrocyte-mediated spike-timing-dependent long-term depression modulates synaptic properties in the developing cortex. *PLoS Computational Biology*. 2020. V. 16. №. 11. P. e1008360.
- 12. Lavrentovich M., Hemkin S. A mathematical model of spontaneous calcium (ii) oscillations in astrocytes. *Journal of Theoretical Biology*. 2008. V. 251. № 4. P. 553–560.
- Riera J., Hatanaka R., Ozaki T., Kawashima R. Modeling the spontaneous Ca2+ oscillations in astrocytes: inconsistencies and usefulness. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2011. V. 10. № 4. P. 439–473.
- Riera J., Hatanaka R., Uchida T., Ozaki T., Kawashima R. Quantifying the uncertainty of spontaneous Ca2+ oscillations in astrocytes: particulars of Alzheimer's disease. *Biophysical Journal*. 2011. V. 101. № 3. C. 554–564.
- 15. De Pittà M., Goldberg M., Volman V., Berry H., Ben-Jacob E. Glutamate regulation of calcium and IP3 oscillating and pulsating dynamics in astrocytes. *Journal of Biological Physics*. 2009. V. 35. № 4. P. 383–411.
- Dupont G., Loomekandja Lokenye E.F., Challiss RA J. A model for Ca2+ oscillations stimulated by the type 5 metabotropic glutamate receptor: an unusual mechanism based on repetitive, reversible phosphorylation of the receptor. *Biochimie*. 2011. V. 93. № 12. P. 2132–2138.
- 17. López-Caamal F., Oyarzún D.A., Middleton R.H., García M.R. Spatial quantification of cytosolic ca 2+ accumulation in nonexcitable cells: an analytical study. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics (TCBB)*. 2014. V. 11. № 3. P. 592–603.

- Lehninger A.L. Mitochondria and calcium ion transport *Biochemical Journal*. 1970. V. 119. № 2. P. 129.
- 19. Zeng S., Li B., Zeng S., Chen S. Simulation of spontaneous Ca2+ oscillations in astrocytes mediated by voltage-gated calcium channels. *Biophysical Journal*. 2009. V. 97. № 9. P. 2429–2437.
- 20. Keizer J., Levine L. Ryanodine receptor adaptation and Ca2+(-)induced Ca2+ release-dependent Ca2+ oscillations. *Biophysical Journal*. 1996. V. 71. № 6. P. 3477–3487.
- Politi A., Gaspers L.D., Thomas A.P., Höfer T. Models of IP3 and Ca2+ oscillations: Frequency encoding and identification of underlying feedbacks. *Biophysical Journal*. 2006. V. 90. № 9. P. 3120–3133.

Рукопись поступила в редакцию 07.04.2021. Переработанный вариант поступил 28.04.2021.

Дата опубликования 15.05.2021.

Mathematical Biology and Bioinformatics doi: 10.17537/2021.16.86

= MATHEMATICAL MODELING =

Modifying the Models of Calcium Dynamics in Astrocytes by Ryanodine Release

Fritsler Y.¹, Bartsev S.², Belozor O.³, Shuvaev Ant.³, Shuvaev And.¹

¹Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia ²Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia ³Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

Abstract. The influence of ryanodine channels on the cytosole Ca^{2+} dynamics was studied. We added the equations for ryanodine receptors and voltage-gated calcium channels into the original De Pitta et al. model of Ca^{2+} . The derived model was shown to have significantly wider range of predictions: we derived the frequency of cytosole calcium spontaneous oscillations (which are absent in the original De Pitta et al. model) for various existing models of Ca^{2+} signalling in astrocytes. Particularly, the initial De Pitta et al. results can be converted to either Lavrentovich and Hemkin model or in the Dupont et al model predictions. The absence of the Ca^{2+} oscillations in astrocytes with the active ryanodine channels only was recently reported. This behaviour can be achieved in our model predictions for the certain values of parameters, which are supposedly responsible for the bifurcation landscape between the oscillatory and non-oscillatory dynamics of cytosol Ca^{2+} in astrocytes. We also investigated the interplay between the spontaneous and glutamate-triggered oscillations.

Key words: mathematical model, astrocyte, CICR.