

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Сухов В. С., Воденев В. А.

(Россия, Нижний Новгород)

Разработана математическая модель потенциала действия у высших растений, учитывающая роль систем активного и пассивного транспорта ионов в генерации импульса. При подготовке модели были учтены изменения концентраций ионов внутри и снаружи клетки и буферные свойства цитоплазмы и апопласта. Численное решение модели показало хорошее соответствие экспериментальным данным.

Введение. Отличительной особенностью биоэлектrogenеза высших растений, в сравнении с животными объектами, являются более высокие (по абсолютной величине) значения мембранного потенциала (E_m) [1]. Потенциал покоя на плазматической мембране (ПМ) клеток, которые ответственны за генерацию и распространение импульсов, более отрицателен в сравнении с другими клетками и составляет, как правило, от -160 до -180 мВ [1]. Высокие значения E_m обусловлены наличием значительной по величине метаболической компоненты, которая составляет не менее 50% от общей величины E_m . Метаболическая компонента E_m связана с активностью электрогенного насоса, представленного H^+ -АТФазой ПМ [1].

Указанная особенность формирования потенциала покоя не может не отразиться на генерации потенциала действия (ПД) у высших растений. В тоже время классическая схема генерации ПД у высших растений не учитывает активность H^+ -АТФазы. В соответствии с ней, при достижении порогового уровня деполяризации происходит открытие потенциалзависимых кальциевых каналов и вход ионов Ca^{2+} в клетку. Это вызывает активацию анионных каналов и приводит к выходу из клетки ионов Cl^- (входящий ток), что обеспечивает формирование фазы деполя-

ризации импульса. Затем происходит выход из клетки ионов K^+ (выходящий ток), которые формируют фазу реполяризации. Но генерацию ПД возбудимыми клетками высшего растения, по-видимому, нельзя объяснить только пассивными потоками ионов. Появляется все больше данных о том, что в этом процессе (наряду с пассивными потоками ионов) принимает непосредственное участие H^+ -АТФаза плазматических мембран [2, 3]. H^+ -АТФаза формирует второй этап фазы реполяризации, и, вероятно, может принимать участие в развитии фазы деполяризации ПД [3].

В настоящей работе предложена модель ПД у высших растений, учитывающая как пассивные потоки ионов, так и работу H^+ -АТФазы плазматических мембран.

Математическая модель потенциала действия. Общие положения. На рис. 1 представлена схема электрофизиологической модели

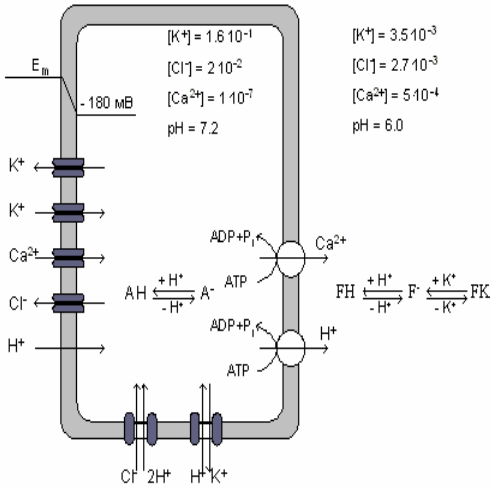


Рис. 1. Схема электрофизиологической модели клетки высшего растения

клетки высшего растения (на основе [1, 4–6, 9]). Она содержит элементы пассивного и активного транспорта ионов K^+ , Cl^- , Ca^{2+} и H^+ . Система пассивного транспорта включает в себя калиевые каналы, обеспечивающие выходящий и входящий поток ионов K^+ (Д- и Г-каналы соответственно), Cl^- -каналы и Ca^{2+} -каналы [1]. Система активного транспорта представлена электрогенным H^+ -насосом (H^+ -АТФаза) [1] и Ca^{2+} -АТФазой [4].

Кроме того к ней относятся $2\text{H}^+/\text{Cl}^-$ -симпортер [5] и H^+/K^+ -антипортер [6].

Изменения концентрации ионов Ca^{2+} , Cl^- и K^+ при генерации ПД у растительных объектов значительны ([1, 7, 8]), поэтому они учитывались при разработке модели ПД. Также были учтены изменения рН и буферные свойства цитоплазмы и апопласта [9].

Изменения мембранного потенциала. Изменения мембранного потенциала описывали уравнением из модели Ходжкина-Хаксли (1) [9].

$$\frac{dE_M}{dt} = \frac{1}{C} \cdot \sum i_r, \quad r \in (\text{K}^+, \text{Cl}^-, \text{H}^+, \text{Ca}^{2+}) \quad (1)$$

где E_M — мембранный потенциал; i_r — плотность тока через мембрану иона сорта r ; C — удельная емкость мембраны.

Пассивный транспорт ионов. Пассивный транспорт ионов описывали уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца для потока ионов (2) [9].

$$i_r = P_r^o P_r^{\max} \frac{zF^2 E_M}{RT} \frac{[I_r]_{in} - [I_r]_{out} \exp\left(-\frac{zFE_M}{RT}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{zFE_M}{RT}\right)} \quad (2)$$

где P_r^o — вероятность открытого состояния канала для иона r ,
 P_r^{\max} — максимальная удельная проницаемость для этого иона,
 $[I_r]_{in}$ и $[I_r]_{out}$ — концентрации несвязанного иона в цитоплазме и апопласте, F , R и T стандартные термодинамические величины.

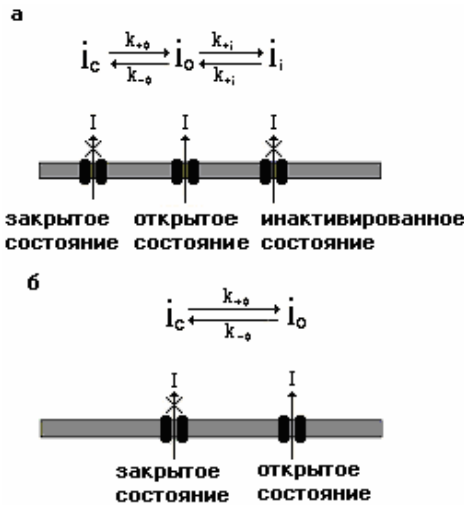


Рис. 2. Схема изменений активности ионных каналов с тремя (а) и двумя (б) состояниями. Пояснения в тексте

Использованные в электрофизиологической схеме клетки ионные каналы могут быть разделены на две группы — способные принимать три (закрытое, открытое и инактивированное) и два (закрытое и открытое) состояния (рис. 2) [9].

Для первых (кальциевые и хлорные) изменения P^o находили из уравнений (3).

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dP^o}{dt} &= k_o \exp\left(C^o \frac{EM}{2}\right) (1 - P^o - P^i) - k_o \exp\left(C^o \left(E_{1/2}^o - \frac{EM}{2}\right)\right) P^o + \\ &\quad + k_i \exp\left(\frac{EM}{2} C_r^i\right) P^i - k_i \exp\left(C^i \left(E_{1/2}^i - \frac{EM}{2}\right)\right) P^o, \quad (3) \\ \frac{dP^i}{dt} &= k_i \exp\left(\frac{EM}{2} C^i\right) P^o - k_i \exp\left(C^i \left(E_{1/2}^i - \frac{EM}{2}\right)\right) P^i, \end{aligned} \right.$$

где P^i — вероятность инактивированного состояния, C^o и C^i — константы, отражающие долю мембранного потенциала, который действует на воротные частицы при переходе в открытое (C^o) и инактивированное (C^i) состояния, и их заряд, $E_{1/2}^o$ и $E_{1/2}^i$ — потенциалы, отражающие разность потенциальных энергий при переходах закрытое-открытое и открытое-инактивированное состояния, соответственно, k_o и k_i — кон-

станты отражающие скорости перемещения воротных частиц в мембране.

Уравнения (3) для кальциевых каналов решали численно, наряду с другими уравнениями модели, а для хлорных использовали равновесное распределение воротных частиц, так как скорости их движения высоки по отношению к скорости изменения потенциала при генерации ПД [11].

Для каналов с двумя состояниями (Г- и Д-калиевые каналы) описание изменения P^o упрощалось (см. уравнение (4)).

Для более быстрых Г-каналов [12] находили равновесное распределение вероятности открытого состояния, а для сравнительно медленных Д-каналов [13] — уравнение (4) решали численно.

$$\frac{dP^o}{dt} = k_o \exp\left(\frac{E_M}{2} C^o\right) (1 - P^o) - k_o \exp\left(C^o \left(E_{1/2}^o - \frac{E_M}{2}\right)\right) P^o. \quad (4)$$

Активный транспорт ионов. Системы первичного (протонная и кальциевая АТФазы) и вторичного (2H⁺/Cl⁻-симпортер и H⁺/K⁺-антипортер) транспорта описывали как системы, которые могут находиться в двух состояниях — свободном и связанном с ионом [14]. Поток через них находили как стационарное решение системы — уравнение (5).

$$j_r^P = E_o \frac{k_{+1}k_{+2} - k_{-1}k_{-2}}{k_{+1} + k_{-1} + k_{+2} + k_{-2}} \quad (5)$$

где E_o — общая концентрация фермента, k_{+1} , k_{-1} , k_{+2} и k_{-2} — константы прямых (+) и обратных (-) переходов свободное – связанное с ионом ($k_{\pm 1}$) и связанное с ионом – свободное ($k_{\pm 2}$) состояния.

Для протонной помпы k описывали уравнениями (6).

$$\left\{ \begin{array}{l} k_{+1} = k_1 [\text{H}^+]_{in}, \\ k_{-1} = k_1 \exp(-\Delta G_{AT\Phi}), \\ k_{+2} = k_2 \frac{FEM}{RT} \frac{1}{1 - \exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}, \\ k_{-2} = k_2 [\text{H}^+]_{out} \frac{FEM}{RT} \frac{\exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}, \end{array} \right. \quad (6)$$

где k_1 и k_2 — не зависящие от мембранного потенциала и концентраций протонов константы, $[\text{H}^+]_{in}$ и $[\text{H}^+]_{out}$ — концентрации протонов в цитоплазме и апопласте, $\Delta G_{AT\Phi}$ — энергия, освобождающаяся при гидролизе АТФ.

Ca^{2+} -АТФазу плазмалеммы описывали одновременно как $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ -антпортер [4]. При этом k задавали уравнениями (7).

$$\left\{ \begin{array}{l} k_{+1} = k_1 [\text{Ca}^{2+}]_{in} [\text{H}^+]_{out}, \\ k_{-1} = k_1 \exp(-\Delta G_{AT\Phi}), \\ k_{+2} = k_2 \frac{FEM}{RT} \frac{1}{1 - \exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}, \\ k_{-2} = k_2 [\text{Ca}^{2+}]_{out} [\text{H}^+]_{in} \frac{FEM}{RT} \frac{\exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}, \end{array} \right. \quad (7)$$

где $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ и $[\text{Ca}^{2+}]_{out}$ — концентрации кальция в цитоплазме и апопласте.

Модулирующее влияние температуры на обе системы описывали с помощью $Q_{10} = 3$.

При описании $2\text{H}^+/\text{Cl}^-$ -симпортера k задавали уравнениями (8)

$$\left\{ \begin{array}{l} k_{+1} = k_1 [\text{Cl}^-]_{in} [\text{H}^+]_{in}^2, \\ k_{-1} = k_1, \\ k_{+2} = k_2 \frac{FEM}{RT} \frac{1}{1 - \exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}, \\ k_{-2} = k_2 [\text{Cl}^-]_{out} [\text{H}^+]_{out}^2 \frac{FEM}{RT} \frac{\exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{FEM}{RT}\right)}, \end{array} \right. \quad (8)$$

где $[\text{Cl}^-]_{in}$ и $[\text{Cl}^-]_{out}$ — концентрации ионов хлора в цитоплазме и апопласте.

к H^+/K^+ -антипортера описывали уравнениями (9).

$$\left\{ \begin{array}{l} k_{+1} = k_1 [\text{K}^+]_{in} [\text{H}^+]_{out}, \\ k_{-1} = k_1, \\ k_{+2} = k_2, \\ k_{-2} = k_2 [\text{K}^+]_{out} [\text{H}^+]_{in}, \end{array} \right. \quad (9)$$

где $[\text{K}^+]_{in}$ и $[\text{K}^+]_{out}$ — концентрации ионов калия в цитоплазме и апопласте.

Модифицирующее влияние ионов кальция. Модифицирующее влияние ионов кальция на активность Cl^- -каналов описывали уравнением (10).

$$A = A_{\max} \frac{[\text{Ca}^{2+}]^2}{K^2 + [\text{Ca}^{2+}]^2} \quad (10)$$

где A — активность при данной концентрации кальция, A_{\max} — максимальная активность, K^2 — константа диссоциации комплекса кальций-фермент ($[\text{Ca}^{2+}] = K$, при $A = 0.5A_{\max}$).

Для описания инактивации H^+ -АТФазы использовали уравнение (11).

$$A = A_{\max} \frac{K}{K + [\text{Ca}^{2+}]} \quad (11)$$

Обозначения аналогичны.

При использовании уравнений (10) и (11) предполагалось, что активность хлорных каналов и H^+ -АТФазы близка к нулю, при очень низких и высоких концентрация Ca^{2+} , соответственно.

Изменения концентрации ионов и буферные свойства цитоплазмы и апопласта. Изменения концентрации ионов внутри и вне клетки описывали на основе уравнения (2), вводя постоянный коэффициент $S/V_{\text{клетки}}$ (отношение площади клетки к ее объему).

Буферные свойства цитоплазмы (рис. 1) описывали формулой (12).

$$[H^+]_{in} = \frac{[H]_{in} - A_0 - K_{in}^H}{2} + \frac{1}{2} \sqrt{\left(\frac{[H]_{in} - A_0 - K_{in}^H}{2}\right)^2 + 4K_{in}^H [H]_{in}} \quad (12)$$

где A_0 — концентрация буфера, $[H]_{in}$ — общая концентрация протонов (свободных и связанных с буфером) в цитоплазме, $[H^+]_{in}$ — концентрация свободных протонов, K_{in}^H — константа диссоциации молекул буфера и протонов [9].

Буферные свойства апопласта (рис. 1) описывали формулой (13)

$$[H^+]_{out} = \frac{[K]_{out} + [H]_{out} - F_0 - K_{out}^H}{2} \frac{K_{out}^H / K_{out}^{K^K} [H]_{out}}{K_{out}^H / K_{out}^{K^K} [H]_{out} + [K]_{out}} + \quad (13)$$

$$+ \frac{1}{2} \sqrt{\left(\frac{[K]_{out} + [H]_{out} - F_0 - K_{out}^H}{2} \frac{K_{out}^H / K_{out}^{K^K} [H]_{out}}{K_{out}^H / K_{out}^{K^K} [H]_{out} + [K]_{out}}\right)^2 + 4K_{out}^H [H]_{out} \frac{K_{out}^H / K_{out}^{K^K} [H]_{out}}{K_{out}^H / K_{out}^{K^K} [H]_{out} + [K]_{out}}},$$

$$[K^+]_{out} = [H^+]_{out} \frac{[K]_{out}}{[H]_{out} \frac{K_{out}^H}{K_{out}^{K^K}}}$$

где F_0 — концентрация буфера, $[K]_{out}$ и $[H]_{out}$ — общая концентрация ионов калия и протонов в цитоплазме, $[K^+]_{out}$ и $[H^+]_{out}$ — концентрация свободных ионов калия и протонов, K_{out}^K и K_{out}^H — константа диссоциации между молекулами буфера и ионами калия и протонами, соответственно.

Формула (13) корректна при условии

$$[H]_{out} \frac{K_{out}^H}{K_{out}^K} \gg [H^+]_{out} \left(1 + \frac{K_{out}^H}{K_{out}^K} \right).$$

Параметры модели и решение. Параметры модели частично брали из данных литературы (табл. 1, рис. 1), частично подбирали. Итоговую систему уравнений решали численно методом Эйлера. Δt подбирали так, чтобы она не оказывала видимого влияния на решение, после чего ее уменьшали еще в 2 раза.

Результаты и обсуждение. Численное решение уравнений модели показало, что при симуляции постепенного охлаждения изменения мембранного потенциала близки к наблюдаемым в ходе эксперимента (из [2]) (рис. 3). Так в обоих случаях при снижении температуры вначале происходила медленная позитивация мембранного потенциала. Когда его величина достигала пороговых значений (–160 — –140 мВ), начинала развиваться фаза деполяризации ПД. После достижения максимума (–40 — –50 мВ) фаза деполяризации сменялась реполяризацией, которая включала в себя два различных по кинетическим характеристикам этапа (рис. 4). К концу фазы реполяризации значения мембранного потенциала достигали величин близких к пороговым значениям (–160 — –140 В).

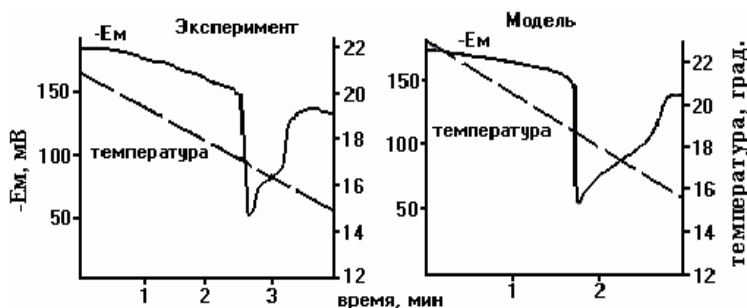


Рис. 3. Наблюдаемый в эксперименте и смоделированный моделью ПД

Таблица 1. Некоторые параметры модели

Параметр	Величина	Источник	Параметр	Величина	Источник
$P_{Cl-каналов}^{max}$	$49 \cdot 10^{-7}$ см/сек	[1]*	$C_{Ca-каналов}^o$	45	[18]*
$P_{Г-каналов}^{max}$	$29 \cdot 10^{-7}$ см/сек	[15]	$E_{каналов}^{o 1/2 Ca}$	-0.09 В	[18]*
$P_{Д-каналов}^{max}$	$29 \cdot 10^{-7}$ см/сек	[1]*	$C_{Cl-каналов}^o$	100	[11]*
$P_{Ca-каналов}^{max}$	10^{-7} см/сек	[1]*	$E_{каналов}^{o 1/2 Cl}$	-0.119 В	[11]*
$K_{Cl-каналов}$	$6 \cdot 10^{-7}$ М	[16]*	$C_{Cl-каналов}^+$	56	[11]*
$K_{H-ATФазы}$	$3 \cdot 10^{-7}$ М	[17]*	$E_{каналов}^{1 1/2 Cl}$	-0.068 В	[11]*
A_o	200 мМ	[9]	$C_{Г-каналов}$	43	[12]*
K_{in}^H	10^{-6} М	[9]	$E_{каналов}^{1/2 Г-К}$	-0.19 В	[12]
F_o	200 мМ	[9]	$C_{Д-каналов}$	44	[13]*
K_{out}^K	10^{-4} М	[9]	$E_{каналов}^{1/2 Д-К}$	-0.065 В	[14]
K_{out}^H	10^{-6} М	[9]	S/V клетки	10^4 см ⁻¹	[10]

* — источники, содержащие данные, на основе которых была получена величина

Таким образом, предложенная модель показывает достаточно хорошее соответствие экспериментальным данным и может быть использована в дальнейших исследованиях участия H^+ -АТФазы в генерации ПД у высших растений.

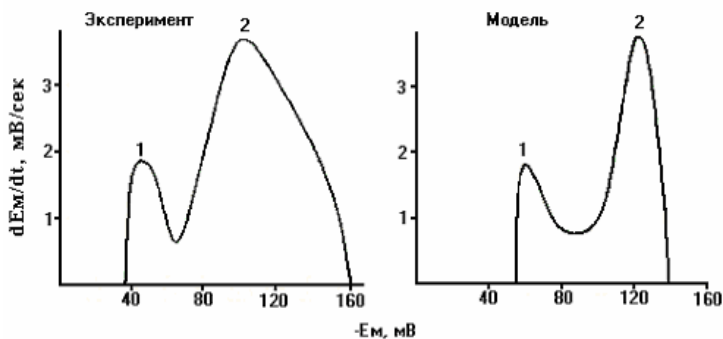


Рис. 4. зависимость скорости изменения мембранного потенциала от его величины на фазе реполяризации у экспериментального и смулированного моделью ПД

Список литературы:

1. Опритов В.А., Пятыйгин С.С., Ретивин В.Г. Биоэлектrogenез у высших растений. — М.: Наука, 1991. 216с.
2. Пятыйгин С.С., Опритов В.А., Половинкин А.В., Воденев В.А. О природе генерации потенциала действия у высших растений // Докл. АН. 1999. Т.36. №3. С.404–407.
3. Опритов В.А., Пятыйгин С.С., Воденев В.А. Непосредственное сопряжение генерации потенциала действия в клетках высшего растения *Cucurbita pepo* L. с работой электрогенного насоса // Физиол. растений. 2002. Т.49. №1. С.160–165.
4. Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе. — Казань: ФЭН, 2001. 448 с.
5. Gradmann D., Hoffstadt J. Electrocoupling of ion transporters in plants: interaction with internal ion concentrations // J. Membrane Biol. 1998. V.166. N.1. P.51–59.
6. Rodriguez-Navarro A. Potassium transport in fungi and plants // Biochimica et Biophysica Acta. 2000. V.1469. N.1. P.1–30.
7. Опритов В.А., Ретивин В.Г. О механизме распространения возбуждения у высших растений // Физиол. растений. 1982. Т.29. №5. С.915–924.
8. Fromm J., Bauer T. Action potentials in maize sieve tube change phloem translocation // J. of Experimental Botany. 1994. V.45. N.273. P.463–469.
9. Gradmann D. Models for oscillations in plants // J. Plant. Physiol. 2001. V.28. N.3. P.577–590.
10. Опритов В.А., Ретивин В.Г., Мельникова О.Б., Федосеев В.В. Анализ электрохимических характеристик клеток проводящих тканей для K^+ // «Биоэлектrogenез и транспорт веществ у растений», Горький, из-во ГГУ. 1986. С.3 – 10.
11. Thomine S., Zimmermann S., Guern J., Barbier-Brygoo H. ATP-Dependent Regulation of an Anion Channel at the Plasma Membrane of Protoplasts from Epidermal Cells of *Arabidopsis Hypocotyls* // The Plant Cell. 1995. V.7. N.12. P.2091–2100.
12. Blatt M.R. K^+ channels of stomatal guard cells // J. Gen. Physiol. 1992. V.99. N.4. P.615–644.
13. Pei Z.-M., Baizabal-Aguirre V.M., Allen G.J., Schroeder J.L. A transient outward-rectifying K^+ channel current down-regulated by cytosolic Ca^{2+} in *Arabidopsis thaliana* guard cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V.95. N.2. P.6548–6553.

14. Beilby M.J., Shepherd V.A. Modeling the current–voltage characteristics of charophyte membranes III. K^+ state of Lamprothamnium // J. Membrane Biol. 2001. V.181. N.1. P.77–89.
15. Tyerman S.D., Beilby M., Whittington J., Juswono U., Neyman L., Shabala S. Oscillations in proton transport revealed from simultaneous measurements of net current and net proton fluxes from isolated root protoplasts: MIFE meets patch-clamp // Aust. J. Plant Physiol. 2001. V.28. N.3. P.591–604.
16. Lewis B.D., Karlin-Neumann G., Davis R.W., Spaiding E.P. Ca^{2+} -activated anion channels and membrane depolarizations induced by blue light and cold in Arabidopsis seedlings // Plant. Physiol. 1997. V.114. N.4. P.1327–1324.
17. Kinoshita T, Nishimura M, Shimazaki K. Cytosolic Concentration of Ca^{2+} Regulates the Plasma Membrane H^+ -ATPase in Guard Cells of Fava Bean // Plant Cell. 1995. V.7. N.8. P.1333–1342.
18. White P.J. Calcium channels in the plasma membrane of root cells // Annals of Botany. 1998. V.81. N.1. P.173–183.

MATHEMATICAL MODEL OF ACTION POTENTIAL IN HIGHER PLANTS

Sukhov V. S., Vodeneev V. A.

(Russia, Nizhny Novgorod)

Mathematical model of the action potential in higher plants was suggested in this article. It took into account part of the active and passive ion transport systems for generation of spike. Also changes of internal and external ion concentrations as well as the buffer properties of cytoplasm and apoplast were taken into account. The numerical solution of this model was similar with experimental data.