

钙离子振荡对肝糖磷酸化酶激活的随机效应研究^{*}

艾尼瓦尔·肉孜^{1)**} 阿布莱提·麦麦提¹⁾ 艾斯卡尔·艾尼瓦尔²⁾

(¹⁾喀什大学物理与电气工程学院, 喀什 844006; (²⁾喀什师范学校理科教研组, 喀什 844000)

摘要 在复杂生化系统的研究过程中, 仿真与建模变得越来越重要. 对于参与分子数量比较大的生化系统, 通常可以采用常微分方程来解决这一问题. 对于分子数量比较小的系统, 离散粒子基础上的随机模拟方法更精确. 然而目前还没有明确的理论方法来确定, 对于实际问题用哪种方法能得到更合理的结果. 因此需要在一个普遍研究的体系中, 通过 Ca^{2+} 振荡传导信号来研究从随机行为到确定行为的过渡过程. 本文以肝细胞中 Ca^{2+} 振荡对肝糖磷酸化酶激活随机效应为例, 讨论了利用随机微分方程来解决分子数量比较小的生化系统的仿真与建模问题, 利用细胞内 Ca^{2+} 有关的 Li-Rinzel 随机模型, 研究了在磷酸化酶降解肝糖的磷酸化 - 去磷酸化作用循环过程中, 三磷酸肌醇受体通道(IP_3R)释放 Ca^{2+} 的调控作用. 结果表明, 肝糖磷酸化酶的激活率随受体通道 IP_3R 的总数增大而减弱, 而且三磷酸肌醇浓度比较小时出现相干共振.

关键词 Ca^{2+} 振荡, 肝细胞, 随机过程, IP_3R 通道

学科分类号 Q67

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0316

通常生化反应系统的数值模拟通过常微分方程组的数值解法 (ODEs) 或随机计算法来完成. 常微分方程算法方便快捷, 但是只适合于参与分子数量很大的近似浓度. 对于较低的粒子数量, 计算离散粒子数量的随机计算方法是更精确的, 但计算量大^[1]. 对于钙离子的动力系统也常采用上述的方法. 长期以来, 人们使用 ODEs 研究 Ca^{2+} 的各种生理效应解释实验所得到的各种现象时, 建立了 Ca^{2+} 动力学的确定性理论体系^[2-4]. 大量的实验表明: 细胞质中的 Ca^{2+} 浓度的变化以振荡的形式表现, Ca^{2+} 浓度振荡的幅值、频率等的变化携带和传递着重要的细胞生理学信息. 同时, 细胞质中 Ca^{2+} 振荡信号既具有十分复杂的时空组织性, 又具有非线性随机特性, 这充分反映了 Ca^{2+} 作为细胞内重要的信使在细胞生理功能方面所表现出来的多样性和复杂性. 近几年来, 许多实验和理论研究表明从细胞内库释放到细胞胞浆的 Ca^{2+} 本质上体现出随机性^[5-6].

Gall 等^[7]从理论上研究了肝细胞中简单 Ca^{2+} 振荡对磷酸化 - 去磷酸化循环控制的肝糖磷酸化酶激活的影响, 发现 Ca^{2+} 降低了激活酶阈值, 可以增强对激素刺激的响应, 在肝细胞胞质 Ca^{2+} 振荡有助于提高细胞信号的效率和特异性. Rozi 和 Jia^[8]研究了复杂 Ca^{2+} 振荡对肝糖磷酸化酶激活控制的影响, 预测在细胞 Ca^{2+} 的爆发振动中肝糖磷酸化酶激活率的平均值几乎不随外界刺激的增加而改变.

本文主要研究了 Ca^{2+} 振荡对肝糖磷酸化酶激活的随机效应, 利用 Li-Rinze 随机模型通过二项式分布进行数值计算, 讨论了在磷酸化酶降解肝糖的

^{*} 国家自然科学基金资助项目(21363010).

^{**} 通讯联系人.

Tel: 0998-2892130, E-mail: anverrozi@163.com

收稿日期: 2016-10-10, 接受日期: 2017-01-22

磷酸化 - 去磷酸化作用循环过程中, 从三磷酸肌醇 (inositol 1, 4, 5-trisphosphate, IP_3) 受体通道 IP_3R 释放 Ca^{2+} 的影响, 在理论上探索不同数量的 IP_3R 通道和不同的 IP_3 糖原磷酸化酶的激活在胞质随机 Ca^{2+} 振荡中的影响.

1 肝细胞中钙离子的振荡模型

1.1 钙离子(Ca^{2+})调节肝糖磷酸化酶

研究 Ca^{2+} 作为生理反应的一个关键调控子的作用, 肝脏提供了一个非常好的系统, 我们曾经研究了 Ca^{2+} 振荡在肝细胞中的磷酸化 - 去磷酸化循环 (此循环控制着一个著名生理过程——肝糖的合成和降解的平衡) 中所起的调控作用^[8]. 关于通过 Ca^{2+} 振荡来调控的肝糖磷酸化酶激活, 利用 Gall 改造的模型, 得到肝糖磷酸化酶的激活率 (Pha) 随时间的演化平衡方程 (公式 1).

$$\frac{dPha}{dt} = V_1(Z) \frac{1-Pha}{K_1(Z)+1-Pha} - \frac{V_{M2}(1+\alpha G/(K_{a1}+G))Pha}{K_2/(1+G/K_{a2})+Pha} \quad (1)$$

式中 G 表示细胞内葡萄糖的浓度, $V_1(Z)$, $K_1(Z)$ 为与细胞内 Ca^{2+} 有关的变量 (公式 2).

$$V_1(Z) = V_M(1 + \gamma \frac{Z^4}{K_{a5} + Z^4}), \quad K_1(Z) = \frac{K_1^1}{1 + Z^4/K_{a6}} \quad (2)$$

两式中 $Z=[Ca^{2+}]$ 表示细胞质的 Ca^{2+} 浓度, 其他各量均为生理学常量而且参数值为:

$G=10.0$ mmol/L, $K_1^1=0.1$, $K_2=0.2$, $K_{a1}=K_{a2}=10$ mmol/L, $K_{a5}=K_{a6}=0.5$, $\alpha=\gamma=9$, $V_M=1.5$ min⁻¹, $V_{M2}=0.6$ min⁻¹.

1.2 Ca^{2+} 振荡对肝糖磷酸化酶的随机效应

Ca^{2+} 振荡的调节对在肝细胞磷酸化去磷酸化循环过程中的糖原降解起着重要作用. 糖原磷酸化酶的作用就是控制肝糖降解. 对这种情况我们利用随机性 Li-Rinzel^[9] 模型是最合适的. 模型中的微分方程为公式 3~10.

$$\frac{d[Ca^{2+}]}{dt} = -I_{Ch} - I_p - I_L \quad (3)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(1-h) - \beta_h h \quad (4)$$

$$I_{Ch} = c_1 v_1 m_\infty^3 n_\infty^3 h^3 ([Ca^{2+}] - [Ca^{2+}]_{ER}) \quad (5)$$

$$I_p = \frac{v_3 [Ca^{2+}]^2}{k_3 + [Ca^{2+}]^2} \quad (6)$$

$$I_L = c_1 v_2 ([Ca^{2+}] - [Ca^{2+}]_{ER}) \quad (7)$$

$$\alpha_h = \alpha_2 d_2 \frac{[IP_3] + d_1}{[IP_3] + d_3} \quad (8)$$

$$\beta_h = \alpha_2 [Ca^{2+}] \quad (9)$$

$$[Ca^{2+}]_{ER} = \frac{c_0 - [Ca^{2+}]}{c_1} \quad (10)$$

方程中 $[Ca^{2+}]$, $[Ca^{2+}]_{ER}$ 和 h 分别表示细胞质的 Ca^{2+} 浓度, 内质网 ER 的 Ca^{2+} 浓度, h 通道开关的慢冲失活率随时间而变化的量. $[IP_3]$ 是三磷酸肌醇的浓度, I_{Ch} 、 I_p 和 I_L 分别表示通过 IP_3R 通道流出细胞库的 Ca^{2+} 浓度流量, 从细胞内空间流出细胞库的 ATP (三磷酸腺苷) 依赖性 Ca^{2+} 浓度流量和泄漏出去的 Ca^{2+} 浓度流量. α_h 和 β_h 是慢冲 Ca^{2+} 失活过程中依赖性 IP_3 和 Ca^{2+} 浓度的速率常数. 其他参量是 $m_\infty = [IP_3]/([IP_3] + d_1)$, $n_\infty = [Ca^{2+}]/([Ca^{2+}] + d_5)$, $c_0 = 2.0$ μ mol/L, $c_1 = 0.185$, $v_1 = 6$ s⁻¹, $v_2 = 0.11$ s⁻¹, $v_3 = 0.9$ s⁻¹, $k_3 = 0.1$ μ mol/L, $d_1 = 0.13$ μ mol/L, $d_2 = 1.049$ μ mol/L, $d_3 = 0.9434$ μ mol/L, $d_5 = 0.08234$ μ mol/L 和 $\alpha_2 = 0.2$ μ mol⁻¹·L·s⁻¹.

考虑随机效应时, 通道浓度流量的表达式 (5) 中通道开关的慢冲失活率 h 的三次方替换通道打开率 (N_{h-open}/N), 即

$$I_{Ch} = c_1 v_1 m_\infty^3 n_\infty^3 \frac{N_{h-open}}{N} ([Ca^{2+}] - [Ca^{2+}]_{ER}) \quad (11)$$

其中 N 和 N_{h-open} 分别表示 IP_3R 的总通道数和 h 的打开数.

2 结果与讨论

对方程式 (1)、(3)、(4) 和 (11) 采用二项式分布和欧拉计算方法. C 语言程序时间步长为 0.001, 每一次计算, 时间演化系统持续 1 000 min 以后结束. 得出 Pha , $[Ca^{2+}]$ 和通道打开率 (h_{open} fraction) d 的时间序列, 如图 1 所示.

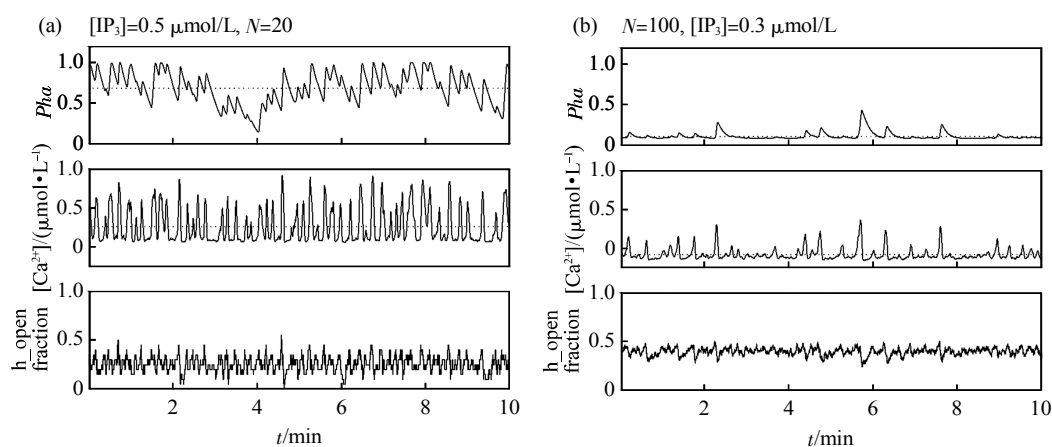


Fig. 1 Time evolution of Pha , $[Ca^{2+}]$ and h_{open} fraction with different $[IP_3]$ and N for constant value

从图 1 中看出, 肝细胞中三磷酸肌醇(IP_3)诱导细胞钙振荡随机效应后, 振荡范围扩大, 振幅增大而且振荡对肝糖磷酸化酶影响增大, 通道总数 N 增大, Ca^{2+} 振荡对肝糖磷酸化酶的影响减小。

随机钙离子振荡对肝糖磷酸化酶的影响与 $[IP_3]$ 和通道总数 N 的变化有关。当 $[IP_3]$ 比较小时, 如

图 2 所示, $[Ca^{2+}]$ 和 Pha 都随通道总数的增加而减小, 但 Pha 减小快一些(图 2b), 当 $[IP_3]$ 比较大(如 $[IP_3]=0.8 \mu\text{mol/L}$)时, $[Ca^{2+}]$ 和 Pha 都随通道总数 N 的增加而增加, 但当中等 $[IP_3]$ ($[IP_3]=0.5 \mu\text{mol/L}$)时, $[Ca^{2+}]$ 随通道总数 N 的增大而基本上不变(图 2a), Pha 则随通道总数 N 的增大先不变后减小(图 2b)。

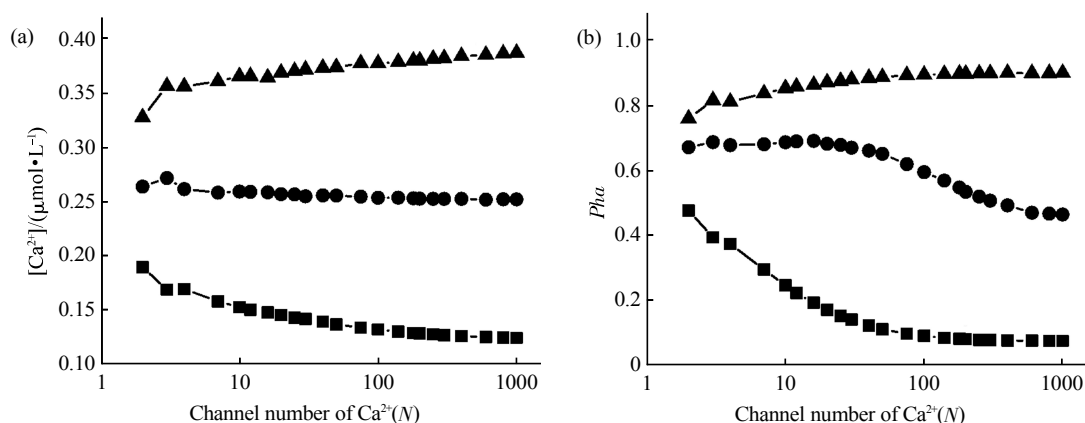


Fig. 2 The average value of Pha and $[Ca^{2+}]$ varies with the total number of channels (N) under different constant value of $[IP_3]$

■—■: $[IP_3]=0.3 \mu\text{mol/L}$; ●—●: $[IP_3]=0.5 \mu\text{mol/L}$; ▲—▲: $[IP_3]=0.8 \mu\text{mol/L}$.

为了定量地描写有限通道数对钙离子振荡和肝糖磷酸化酶激活率的影响, 引入变异系数 $CV^{[10]}$

$$CV = \sqrt{\frac{\langle T^2 \rangle - \langle T \rangle^2}{\langle T \rangle^2}} \quad (12)$$

T 表示振荡峰间距(inter-spike intervals), CV 的倒数代表相干共振的程度, 所以 CV 显示出衡量峰的相干性(例如随机振荡的有序程度). CV 与通道数 N 之间的函数关系如图 3 所示, 对不同 $[IP_3]$ 的 Ca^{2+} 的相干系数随通道总数 N 的增加而减小(图 3a), 这表明随通道总数 N 增加钙离子振荡的随机性减小而随机性振荡趋于确定性振荡. 对 $[IP_3]$ 比较大的 ($[IP_3]=0.8 \mu\text{mol/L}$) 磷酸化酶激活率(Pha)的相干系数随通道数 N 的增加减小, 但是当 $[IP_3]=0.3 \mu\text{mol/L}$ 时, CV_Pha 具有最大值(图 3b), 这表明随机钙离子振荡对肝糖磷酸化酶激活影响的过程中出现了相干共振现象. 生物学意义上来说, 所讨论的通道数 N 是依赖于 IP_3 敏感性产生 Ca^{2+} 信号的离散团簇的通道数, Ca^{2+} 释放的部位由相当有限数量的高效率传递信息的通道组成, 其中几个 IP_3 敏感性的 Ca^{2+}

通道开放而释放 Ca^{2+} , 一个团簇应该包含近距离接触的 30 个左右 IP_3 敏感性的 Ca^{2+} 通道, 在不同类型的单个细胞中 IP_3 引起细胞内的 Ca^{2+} 振荡模式, Ca^{2+} 信号在空间组织上体现为 Ca^{2+} 波的形式, 开始于某些区域的细胞质并在整个细胞传播, 较弱 IP_3 刺激诱发细胞内最基本的 Ca^{2+} 信号, 这些 Ca^{2+} 信号只限于细胞质内 Ca^{2+} 释放处周围的小区域^[11]. 以相对较低 IP_3 浓度, 在一个给定的团簇中大多数开放的 IP_3 敏感性通道可能会有爆发, 因为活跃的通道不被其他 IP_3 束缚的通道影响, 然而, 较高 IP_3 浓度诱导团簇附近几个 IP_3 受到束缚通道随后打开, 因此产生缓冲. 假设一个团簇里 IP_3 受到束缚的 Ca^{2+} 通道的比例为 $5/N$, IP_3 敏感性开放 Ca^{2+} 通道的比例为 $3/N$, 通过随机模拟得出几十个通道数团簇的 Ca^{2+} 的打开概率大, 随机钙离子振荡对肝糖磷酸化酶激活影响强, 当 IP_3 的浓度比较低 ($[IP_3]=0.3 \mu\text{mol/L}$, $N=16$) 时, 这种影响最强. 我们可以证明一个密集堆积组成的理论团簇的 25 个通道能产生 Ca^{2+} 信号而且与实验观测一致.

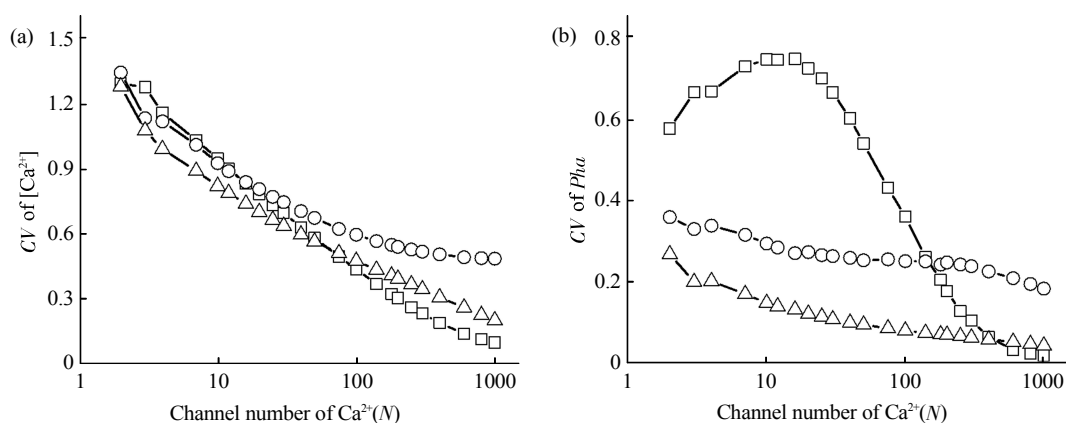


Fig. 3 The CV of $[Ca^{2+}]$ (a) and CV of Pha (b) varied with the total number of channels (N) under different value of $[IP_3]$

□—□: $[IP_3]=0.3 \mu\text{mol/L}$; ○—○: $[IP_3]=0.5 \mu\text{mol/L}$; △—△: $[IP_3]=0.8 \mu\text{mol/L}$.

3 结 论

Ca^{2+} 振荡机制主要用确定性建立的模型来处理. 但是在一些细胞器中, 膜受体的数量、离子通

道数和钙离子浓度比较低, 随机效应不能忽略. 此时, 一些细胞 Ca^{2+} 信号需要用随机性建立的模型处理^[12]. 本文利用 Li-Rinzel 随机模型通过二项式分布数值计算, 讨论了关于随机 Ca^{2+} 振荡的情形

下不同数量的 IP_3R 通道和 IP_3 浓度对肝糖磷酸化酶激活的影响, 结果表明, 肝糖磷酸化酶的激活率强烈受到了 IP_3R 通道的数量和三磷酸肌醇(IP_3)浓度水平的影响, IP_3 的浓度水平比较低情况下, IP_3R 通道的数量越大, 随机 Ca^{2+} 振荡对肝糖磷酸化酶激活的影响越小, 数量比较小的 IP_3R 通道增强了磷酸化酶激活的敏感度, IP_3R 通道数很大($N \rightarrow \infty$)时, 随机 Ca^{2+} 振荡对磷酸化酶激活的影响趋于确定性的情形. 与此同时, 对低浓度的 IP_3 , 肝糖磷酸化酶的激活率平均值 $\langle Pha \rangle$ 随 IP_3R 通道数 N 增大而减小, 而出现相干共振现象, 所以, IP_3R 通道数较少时随机 Ca^{2+} 振荡对肝糖磷酸化酶激活影响较强. 但是对高浓度的 IP_3 , $\langle Pha \rangle$ 随 N 的增大而增大, 所以在有限分子数的确定性模型中出现了随机性属性. 最后, 我们认为在肝细胞中考虑到 Ca^{2+} 振荡模型的随机效应是非常重要的.

参 考 文 献

- [1] Kummera U, Krajnc B, Pahle J, *et al.* Transition from stochastic to deterministic behavior in calcium oscillations. *Biophysical Journal*, 2005, **89**(3): 1603–1611
- [2] Jafri M S, Vajda S, Pasik P, *et al.* A membrane model for cytosolic calcium oscillations A study using *Xenopus* oocytes. *Biophysical Journal*, 1992, **63**(1): 235–246
- [3] Houart G, Dupont G, Goldbeter A. Bursting, chaos and birhythmicity originating from self-modulation of the inositol 1, 4, 5-trisphosphate signal in a model for intracellular Ca^{2+} oscillations. *Bulletin of Mathematical Biology*, 1999, **61**(3): 507–530
- [4] Perc M, Marhl M. Different types of bursting calcium oscillations in non-excitable cells. *Chaos, Solitons and Fractals*, 2003, **18**(4): 759–773
- [5] Perc M, Green A K, Dixon C J, *et al.* Establishing the stochastic nature of intracellular calcium oscillations from experimental data. *Biophysical Chemistry*, 2008, **132**(1): 33–38
- [6] Li Y P, Li Q S. Implicit and explicit internal signal stochastic resonance in calcium ion oscillations. *Chemical Physics Letters*, 2006, **417**(4–6): 498–502
- [7] Gall D, Baus E, Dupont G. Activation of the liver glycogen phosphorylase by Ca^{2+} oscillations: a theoretical study. *J Theor Biol*, 2000, **207**(4): 445–454
- [8] Rozi A, Jia Y. A theoretical study of effects of cytosolic Ca^{2+} oscillations on activation of glycogen phosphorylase. *Biophysical Chemistry*, 2003, **106**(3): 193–202
- [9] Wu D, Jia Y, Rozi A. Effects of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor-mediated intracellular stochastic calcium oscillations on activation of glycogen phosphorylase. *Biophysical Chemistry*, 2004, **110** (1–2): 179–190
- [10] Zhu C L, Jia Y, Liu Q, *et al.* A mesoscopic stochastic mechanism of cytosolic calcium oscillations. *Biophysical Chemistry*, 2007, **125**(1): 201–212
- [11] Swillens S, Dupont G, Combettes L, *et al.* From calcium blips to calcium puffs: Theoretical analysis of the requirements for interchannel communication. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(24): 13750–13755
- [12] Perc M, Green A K, Dixon C J, *et al.* Establishing the stochastic nature of intracellular calcium oscillations from experimental data. *Biophysical Chemistry*, 2008, **132**(1): 33–38

The Stochastic Effects of Ca^{2+} Oscillations on Activation of Glycogen Phosphorylase*

Anvar ROZI^{1)**}, Ablet MAMAT¹⁾, Askar ANVAR²⁾

¹⁾ Institute of Physics and Electrical Engineering, Kashgar University, Kashgar 844006, China;

²⁾ Science Teaching Group, Kashgar Teaching School, Kashgar 844000, China)

Abstract Simulation and modeling is becoming more and more important when studying complex biochemical systems. Most often, ordinary differential equations are employed for this purpose. However, these are only applicable when the numbers of participating molecules in the biochemical systems are large enough to be treated as concentrations. For smaller systems, stochastic simulations based on discrete particle are more accurate. Unfortunately, there are no general rules for determining which method should be employed for a specific problem to get the most realistic result. Therefore, we study the transition from stochastic to deterministic behavior in a widely studied system by calcium oscillation transmission signals. Used stochastic effects of calcium oscillations on glycogen phosphorylase activation in hepatocytes as an example, we attempted to solve the problem of simulation and modeling in the biochemical system with small number of molecules by stochastic differential equation. The possible role of Ca^{2+} released from the inositol 1, 4, 5-trisphosphate (IP_3) receptor channel in the regulation of the phosphorylation-dephosphorylation cycle process involved in glycogen degradation by glycogen phosphorylase have theoretically investigated using stochastic the Li-Rinzel model for cytosolic Ca^{2+} oscillations. The results show that the fraction of active phosphorylase is decreased with the total number of receptor channel IP_3R increasing and for the small concentration of IP_3 with appearance of coherence resonance.

Key words Ca^{2+} oscillations, hepatocytes, stochastic process, IP_3R channel

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0316

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (21363010).

**Corresponding author.

Tel: 86-998-2892130, E-mail: anverrozi@163.com

Received: October 10, 2016 Accepted: January 22, 2017