

单个心肌细胞中随机钙火花诱发的钙离子螺旋波*

白永强^{1)†} 朱星²⁾³⁾

1) (东北石油大学电子科学学院, 黑龙江省高校校企共建测试计量技术及仪器仪表工程研发中心, 大庆 163318)

2) (北京大学物理学院, 人工微结构与介观物理国家重点实验室, 北京 100871)

3) (国家纳米科学中心, 北京 100080)

(2012年3月19日收到; 2012年5月24日收到修改稿)

利用改进的描述单个心肌细胞内钙信号的离散的 fire-diffuse-fire 模型和相分析方法, 模拟研究了钙火花随机释放特性对钙离子螺旋波的诱导激发作用, 研究表明, 适当频率的钙火花可以在静息心肌细胞中诱导产生钙离子螺旋波; 时序和空间不同的钙火花引起的相奇点的出现, 是产生螺旋波的关键; 系统相奇点的个数与钙火花频率相关, 并且对于固定系统有极限值.

关键词: 心肌细胞, 钙火花, 钙离子螺旋波, 相奇点

PACS: 82.39.Rt, 87.16.Xa, 89.75.Kd

1 引言

钙离子是广泛存在的细胞重要信使之一, 调节着许多细胞的活动^[1-3]. 在钙离子行使信使功能时, 极少的钙离子与感受器 (effectors) 结合, 就能调节诸如卵细胞受精 (fertilization)、发育 (proliferation)、DNA 转录 (transcription)、细胞代谢 (metabolism)、细胞收缩 (contraction)、胞外分泌 (exocytosis) 等重要的生理过程^[4]. 并且调节的时间从若干小时到几十毫秒不等. 之所以钙离子如此重要, 钙信号动力学成为生物学研究热点之一.

在心肌细胞中, 钙活动展现出特殊的形式. 心肌细胞的结构与其他细胞有很大不同. 心肌细胞呈椭圆柱形, 长度约 100 到 150 μm , 径向宽 20—30 μm , 高约 10 μm . 在径向上, 细胞表面有间距约为 2 μm 的 Z 线, Z 线上分布着一些延伸至细胞内部的一些 T 小管 (transverse-tubule), 而在 T 小管上分布着电位调控型钙通道^[5], 这些细胞膜上的钙通道又与肌质网上的钙通道——雷诺定受体相邻.

肌质网上的钙通道释放钙离子的过程具有时间和空间不连续性. 首先通道在空间上是离散的, 间隔在微米量级, 其次在时间上, 释放由一次次时间间隔的释放事件——钙火花 (Ca^{2+} spark)(快速且较短时间内从钙通道释放的钙离子)^[6] 组成. 其峰值钙浓度约为 0.3 $\mu\text{mol/L}$, 持续时间约为 20 ms. 在细胞质低钙浓度情况下, 钙火花在空间和时间上是独立的随机分布的, 但是当细胞质的局域钙浓度升高时, 钙火花释放过程就能够在钙诱导钙释放 (Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release, CICR) 机理的作用下, 在近邻释放通道连续下去, 从而形成钙波^[7]. 这种钙波由一个个单独的钙火花组成, 因此它具有跳跃式的波前^[8].

在活体生物系统中, 螺旋波多数是自发随机产生的, 比如阿米巴重聚集时螺旋波的产生随机性^[9]. 另外一个非常重要的病理现象如当心脏纤颤时, 自发的异位灶 (ectopic focus) 是螺旋波的组织中心, 如何更加清楚了解异位灶处发生的情况对掌握螺旋波的特性是至关重要的, 然而这方面的研究还没有广泛展开, 人们只是知道奇点或异位灶产生

* 黑龙江省自然科学基金 (批准号: A200911) 和国家重点基础研究发展计划 (973 计划)(批准号: 2007CB936800) 资助的课题.

† E-mail: yongqiangbai@gmail.com

了,但是为什么会在此处产生却没有很清楚的生理或病理认识. 本文针对心肌细胞钙火花的随机释放特性,利用改进的 fire-diffuse-fire(FDF)模型,模拟钙螺旋波的自发产生,并通过相分析方法研究螺旋波的产生与释放位点随机特性及相奇点三者之间的关系

2 FDF 模型与相分析方法

2.1 FDF 模型

根据心肌细胞中钙诱导钙释放机制和钙火花存在的客观事实,Keizer等^[10]提出了描述心肌细胞内钙离子活动的离散的FDF模型,在FDF模型基础上,Coombes和Timofeeva^[11]在2003年又将模型简化.由于Keizer模型的非线性项过于复杂,实现起来较费时费力,同时Coombes和Timofeeva模型又过于简化,因此我们基于上述两个FDF模型进行了模型的改进.在模型中保留了 J_{serca} (钙泵特征描述项),采用的也是Keize模型中的形式,而不是用Coombes和Timofeeva采用的 u/τ_d ,因为其形式过于简单,不能真实反应钙泵的作用,典型的现像就是当钙浓度上升到阈值以上时,通道开放后,整体钙浓度下降较慢,如果是螺旋波或靶波出现时,钙浓度一直很高,基本上时刻超过阈值,这是不真实的,所以用Keize提出的形式.由于 J_{leak} (肌质网漏钙流)较小,忽略其作用.对于钙通道释放特性的描述同Coombes和Timofeeva模型描述的一致.这样整个模型描述如下:

$$\frac{\partial u}{\partial t} = -\frac{vu^4}{k^4 + u^4} + D\nabla^2 u + \sum_m \sum_n \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_n) \eta(t - T_n^m), \quad (1)$$

$$T_n^m(\mathbf{r}) = \inf \left\{ t \mid u(\mathbf{r}, t) > u_c, \frac{\partial u(\mathbf{r}, t)}{\partial t} > 0, T_n^m(\mathbf{r}) > T_n^{m-1}(\mathbf{r}) + \tau_R \right\}, \quad (2)$$

$$\eta(t) = \frac{\sigma}{\tau} \Theta(t) \Theta(\tau - t). \quad (3)$$

(1)式中 u 为细胞内钙离子浓度, t 为时间, v 为钙泵最大回收钙流, k 表示钙泵与钙离子亲和能力, \mathbf{r}_n 为钙离子释放位点(钙离子释放通道,在心肌细胞中,它们是离散分布的), $T_n^m(\mathbf{r})$ 为第 n 个释放位点第 m 次释放时间,(2)式详细解释了释放条件,其

中括号中第一部分表示钙离子释放时通道附近钙离子浓度要大于钙释放通道阈值 u_c ,第二部分钙离子浓度对时间的微分大于0,表示钙离子浓度在上升时刻(为了防止钙波回传)钙通道释放,第三部分表示同一释放位点相邻两次释放时间间隔要大于钙通道不应期 τ_R .(3)式中 σ 为总释放强度, τ 为释放时间, Θ 为Heaviside函数,表示钙离子释放形状为方波,总强度为 σ ,一次释放时间为 τ ,实际模拟时,(1)—(3)式中参数的选择见文献[12],当然不同参数的组合,系统具有不同的激发状态^[12],这里我们固定 $D = 0.01 (\mu\text{m})^2/\text{ms}$; $\sigma = 0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\mu\text{m}$; $\tau = 10 \text{ ms}$; $\tau_R = 150 \text{ ms}$; $u_c = 0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $v = 1.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}/\text{s}$; $k = 0.25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.在实际的模拟过程中,我们没有解方程的解,而是直接将微分方程差分,通过迭代关系将钙浓度随着时空的演变模拟出来.

2.2 相分析方法

此种方法最先出现于针对心脏纤颤现象的研究^[13].在心脏纤颤时,每个位点的跨膜电位呈现出很强的周期性振荡.这种周期性振荡在二维相空间可以看成是一个吸引子(attractor),每个位点的信号相位绕着吸引子组成环形曲线.在相平面空间,每个纤颤源可以看成是一个拓扑缺陷(topologic defect),又称相奇点.通过相奇点的出现与消失可清晰明了地判断纤颤的出现与消失.在通常情况下,可激发介质的基本单元在相空间处于稳定点,一旦扰动超过阈值,它就能够进行时间振荡.在周期动力学中,将信号以相的形式表示是非常简洁和有意义的.比如振荡行为的改变实际上就是改变了振荡的相位 θ (即相重置, phase resetting).对于螺旋波而言,信号也是随着时间变化的持续振荡,是围绕着拓扑缺陷的可激发介质的激发和扩散,此拓扑缺陷的相位是任意的,并且相梯度围着这点作路径的顺时针积分,值可以是 2π 或 -2π ^[14],分别代表着顺时针和逆时针旋转的螺旋波.在数学上此点表示为: $\oint \nabla\theta \cdot d\mathbf{l} = \pm 2\pi$.本研究中相位的计算由 $\theta = \arctan(u(t+\tau) - u_{\text{mean}}, u(t) - u_{\text{mean}})$ 取得,其中 τ 取信号振荡最不相关时间,为振荡的1/4周期, u_{mean} 表示钙离子在细胞中的平均浓度.利用此方法可以清楚分析出系统奇点个数和螺旋波旋转特点.

3 结果与讨论

在实际的观察过程中,细胞里边的钙信号活动是随机自发产生的^[15].因此我们根据钙信号活动的特点,在模拟过程中加入了随机特性.随机特性可以在如下方面引入,首先是钙火花释放的随机性,因为在实验中观察自发钙火花是随机释放的;另外钙释放通道钙敏感的随机性,也就是阈值的不确定性,即不同的通道在不同时刻其触发阈值是不固定的,有一定的随机性;还有就是不应期的不固定性,当钙通道释放完钙火花后,其进入不应期,但是不应期的时间并不是固定不变的,不同地点和不同时刻都会有变化;所以在心肌细胞中钙信号传递过程当中,随机性是非常重要的,尤其是螺旋波的产生,就是由这些随机特点共同决定的.

在我们的模拟过程中,只考虑了钙火花的随机释放特性.在程序的执行过程中,当循环步骤执行到释放位点位置时,产生一个随机数,在设定阈值情况下,如果随机数大于阈值,那么此处钙通道释放,当然此通道应该处于不应期之外,这样就可以产生一些随机的钙火花,这些钙火花随着随机释放量的不同可能自组织成靶波、螺旋波、或混沌状态.在本文中所采用的随机值 P 表示 1 s 时间内某个位点具有多少概率释放钙火花,比如 $P = 1$ 表示每秒内每个钙释放通道有一次释放概率.

图 1 显示了在不同钙火花释放频率下模拟信号的振荡特性.可以看出在随机频率非常小 ($P = 0.05$) 的情况下,系统几乎没有振荡,偶尔有靶波出现 (3 s 左右).随着频率的升高,体系开始出现振荡特点 ($P = 0.1, 0.2, 0.5$),这些振荡时而规则出现,时而间断.当频率增加到 $P = 1.0$ 时,振荡的峰值和频率就不那么规则了,随着频率的再增加,系统变成非常不规则,成为混乱状态 (turbulence).通过以上描述可以看出系统的振荡特性与钙火花的释放频率密切相关.

当钙火花释放频率适合时,系统就可以自发产生靶波,有时在自发钙火花的干扰情况下可行成螺旋波.图 2 显示了在 $P = 0.2$ 情况下,一个螺旋波自发产生的过程.此过程是自发产生的,与我们实验中观察到的现象一致^[16].首先是某处钙通道释放钙火花 (图 2, 169 ms 图箭头所指),然后临近的几个钙通道释放,由于释放前一钙火花的通道还没有

恢复不应期,所以新释放的钙火花形成的波前为具有豁口的不对称的波形,此波形继续扩散形成具有两个自由端点的行波,并且由于自由端点处扩散效应的不同,就形成螺旋波.此螺旋波的端点在开始阶段由于其他钙火花的干扰并不固定,有较大的游走 (512—703 ms),当经过一两个周期后,螺旋波变得较为规则 (815 ms),形成稳定的螺旋波,虽然一些自发的钙火花有干扰作用,但是多数位置的钙火花并不能影响螺旋波存在的本质,只是螺旋波波臂上会有一些间断,但是只有恰当位置 (端点附近) 的随机钙火花才能使螺旋波改变或消失^[17].

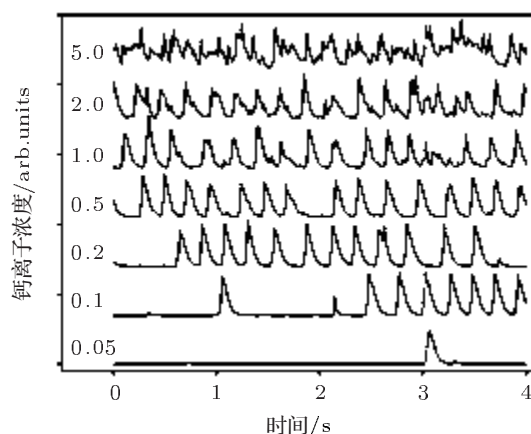


图 1 不同钙火花释放频率条件下模拟系统的振荡特点.在较小钙火花释放频率时 ($P = 0.05$),系统没有振荡,当频率适合时系统能有较强的振荡 ($P = 0.1—0.5$),而且持续时间较长,当频率继续增加系统振荡逐渐变得混乱 ($P = 1.0—2.0$) 以至于再以后成为混乱状态 ($P = 5.0$)

在系统振荡的过程当中,随机的钙火花可以使系统出现奇点,虽然并不是每个奇点都能产生螺旋波,但是螺旋波的产生必须要有奇点的出现^[18],那么研究钙火花和相奇点的关系就变得很重要.

图 3 显示了在不同钙火花随机释放频率情况下系统典型的相奇点分布情况.在频率较低时,奇点数是非常少的,但是随着频率的增加奇点数也会变多.而在较少的奇点的情况下才会有长程传播的螺旋波 ($P = 0.1, 0.2$),奇点的增加就破坏了这种传播特点,形成多个子螺旋波 (daughter spiral wave).这种子螺旋波虽然在连续系统中可由参数调节使系统出现分岔而产生,一般此时螺旋波波臂具有横向不稳定性^[19].我们的模拟实验显示这种横向的不稳定性 (即新的缺陷的产生) 可能是由

反应位点 (钙释放通道) 随机特性产生的. 当人为在模型中加入固定周期分布的缺陷时, 螺旋波会失稳^[20], 这也证实微区域的特性能够影响螺旋波整体行为.

相奇点的数目也会随着时间发生变化 (图 4), 在模拟的开始阶段, 各种钙火花释放频率下, 奇点

数都很少 (< 10), 随着时间的增加, 对于较高频率 ($P = 5.0$) 钙火花的情况, 奇点个数突然增加, 并且维持在高数量. 奇点数量也有一些波动, 这体现了钙火花释放的随机性. 对于较低钙火花释放频率, 奇点数量一直没有较大变化, 维持在个位数量级 ($P = 0.5, 0.1, 0.2$).

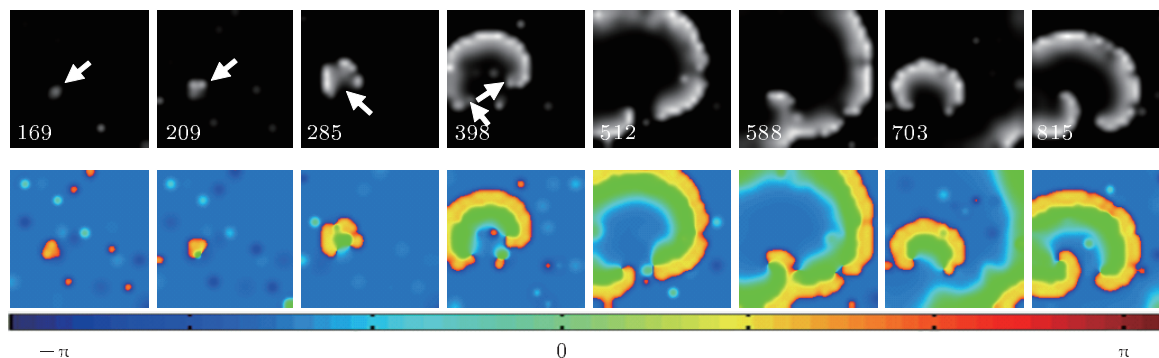


图 2 螺旋波的自发随机产生. 上行灰度图为钙离子浓度分布, 下行伪彩色图为相位图, 色彩条表示相位. 由于钙火花的随机释放特性, 当其频率适合时, 就一定会有时空上的自组织行为, 形成螺旋波. 首先是自由组合的钙火花 (209 ms, 箭头所指) 所形成的钙波遇到适合位置出现的处在不应期内的释放区域 (169 ms, 箭头所指), 然后形成具有两个自由端点行波 (自由端和行波构成具有豁口的圆形), 这两个端点在位相图中就是相奇点, 有了奇点的产生就可能产生持续的螺旋. 随着时间的推移, 清晰的螺旋产生了 (512—815 ms). 模拟范围 $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$

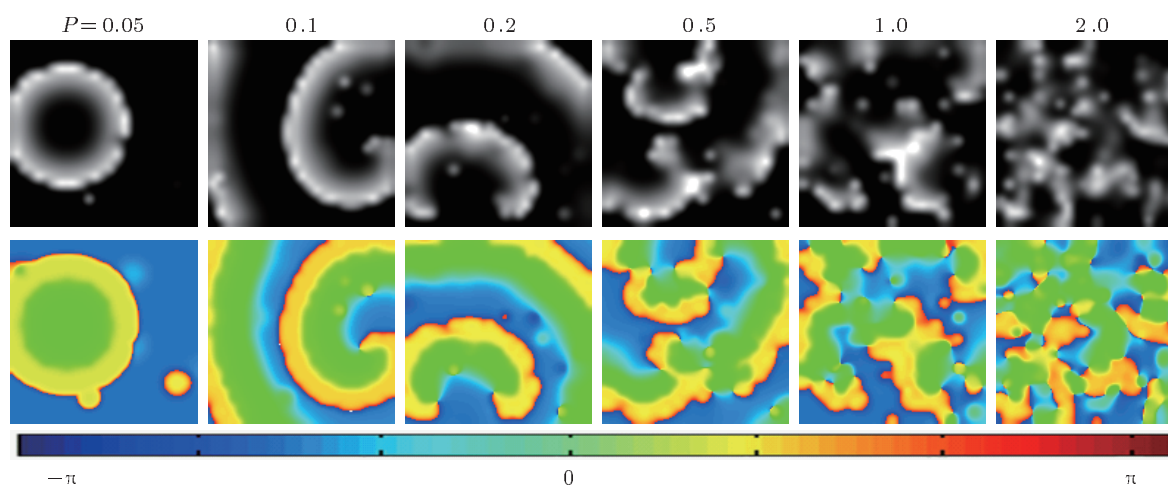


图 3 不同钙火花释放频率情况下系统相奇点空间分布情况. 上行灰度图为钙离子浓度分布, 下行伪彩色图为相位图, 色彩条表示相位. 随着钙火花释放频率的不同相奇点的多少发生变化, 相应的螺旋波可传播的距离也发生改变, 最后系统并没有稳定的螺旋波, 而变成混乱状态 ($P = 2.0$). 模拟范围 $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$

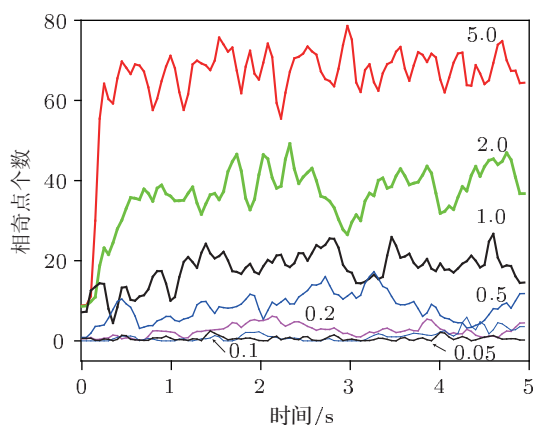


图4 相奇点数量随时间的变化关系. 图例中数字表示钙火花释放频率. 在较小钙火花释放频率情况下, 相奇点个数随时间起伏较小(基数也很小), 当频率增加时相奇点个数在模拟开始阶段突然增多, 并维持在较高水平, 并且有一些振荡, 这种振荡体现了钙火花释放的随机特性. 相奇点的数值为以毫秒为间隔每帧模拟中奇点的个数

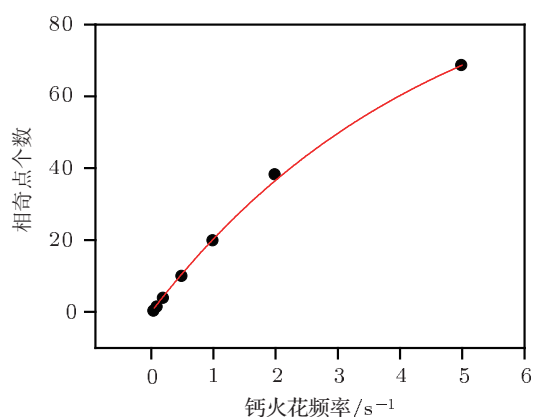


图5 相奇点和钙火花频率之间的关系. 拟合曲线显示它们满足 e 指数关系: $y = a(1 - \exp(-bx))$, 其中 y 为相奇点个数, x 为钙火花频率, 拟合参数 $a = 103$, 标准差为 7, $b = 0.22$, 标准差为 0.02

虽然相奇点随着钙火花频率的增加而增加, 它

们之间有什么规律呢? 图5显示了相奇点每帧平均个数和钙火花之间的关系, 拟合曲线显示相奇点个数和钙火花频率之间呈 e 指数增加关系, 关系式为 $y = a(1 - \exp(-bx))$, 其中 y 为相奇点个数, x 为钙火花频率, 拟合参数 $a = 103$, 标准差为 7, $b = 0.22$, 标准差为 0.02. 通过标准差的大小可以看出, 曲线拟合得非常好. 通过曲线参数可知奇点出现的个数最多为 103 个, 因此说明当增加钙火花频率时, 相奇点会有极限值, 就是说增加钙火花释放频率并不能一直增加相奇点个数, 从而也就不能增加螺旋波的个数.

4 结论

利用改进的 fire-diffuse-fire 模型和相分析方法模拟研究了单个心肌细胞内随机出现的钙火花对钙离子螺旋波的诱导作用. 发现当钙火花的释放频率增加时系统由不振荡向规则振荡再到混沌状态转变, 当钙火花频率适合时 ($P > 0.1$), 几个时序和空间不同的钙火花能够诱发系统的螺旋波的形成. 相分析方法显示, 系统的拓扑奇点与钙火花的释放频率相关, 然而并不随钙火花释放频率的增加而线性增加. 拟合曲线显示系统的相奇点个数有极限值. 从而可以分析出, 合理抑制钙火花频率, 可以减少系统的拓扑奇点, 进而减少出现钙离子螺旋波的可能. 心肌细胞出现钙螺旋波后, 它将不能以正常韵律收缩, 也就失去了其生理功能, 有可能成为异位灶, 进而成为引起心脏纤颤的螺旋波的组织中心, 虽然由细胞膜边缘开始的局域控制也能有效抑制螺旋波^[21], 但是我们的研究结果希望能在离子通道和单细胞层面为心脏病的预防和治疗提供帮助.

[1] Clapham D E 1995 *Cell* **80** 259
 [2] Berridge M J, Lipp P, Bootman M D 2000 *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **1** 11
 [3] Carafoli E, Santella L, Brance D, Brini M 2001 *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **36** 107
 [4] Berridge M J, Bootman M D, Llewelyn Roderick H 2003 *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **4** 517
 [5] Bers D M 2002 *Nature* **415** 198
 [6] Cheng H, Lederer W J, Cannell M B 1993 *Science* **262** 740
 [7] Cheng H, Lederer M R, Lederer W J, Cannell M B 1996 *Am. J. Physiol.* **270** C148

[8] Lukyanenko V, Györke S 1999 *J. Physiol.* **521** 575
 [9] Björnstad O N, Peltonen M, Liebhold A M, Baltensweiler W 2002 *Science* **298** 1020
 [10] Keizer J, Smith G D 1998 *Biophys. Chem.* **72** 87
 [11] Coombes S, Timofeeva Y 2003 *Phys. Rev. E* **68** 021915
 [12] Bai Y Q, Zhu X 2010 *Chin. Phys. Lett.* **27** 048201
 [13] Gray R A, Pertsov A M, Jalife J 1998 *Nature* **392** 75
 [14] Iyer A N, Gray R A 2001 *Ann. Biomed. Eng.* **29** 47
 [15] Falcke M, Tsimring L, Levine H 2000 *Phys. Rev. E* **62** 2636
 [16] Bai Y, Tang A, Wang S, Zhu X 2008 *J. Microsc.* **229** 555
 [17] Tang A H, Wang S Q 2009 *Chaos* **19** 037114

- [18] Gotoh M, Uchida T, Mandel W J, Fishbein M C, Chen P S, Karagueuzian H S 1997 *Circulation* **95** 2141
[19] Marée A F M, Panfilov A V 1997 *Phys. Rev. Lett.* **78** 1819
[20] Tang D N, Tang G N 2010 *Acta Phys. Sin.* **59** 2319 (in Chinese)
[唐冬妮, 唐国宁 2010 物理学报 **59** 2319]
[21] Qiu K, Tang J, Ma J, Luo J M 2010 *Chin. Phys. B* **19** 030508

Calcium ion spiral wave induced by random calcium ion sparks in single heart cell*

Bai Yong-Qiang^{1)†} Zhu Xing²⁾³⁾

1) (School of Electronic Science, Northeast Petroleum University, The University-enterprise R & D Center of Measuring and Testing Technology & Instrument and Meter Engineering in Heilongjiang Province, Daqing 163318, China)

2) (School of Physics, State Key Laboratory for Artificial Microstructure and Mesoscopic Physics, Peking University, Beijing 100871, China)

3) (National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100080, China)

(Received 19 March 2012; revised manuscript received 24 May 2012)

Abstract

Calcium ion spiral wave induced by random released calcium ion sparks in single heart cell is studied using the improved discrete fire-diffuse-fire model and phase analysis method. The results show that calcium ion spiral wave can be excited in resting heart cell by calcium ion sparks at an appropriate release frequency. The key of the generation of calcium ion spiral wave is the emergence of the phase singularity caused by the calcium sparks in the different time and space sequences. The number of phase singularity is exponentially linked with calcium ion spark frequency, and has the limit in a fixed system.

Keywords: heart cell, Ca^{2+} spark, Ca^{2+} spiral wave, phase singularity

PACS: 82.39.Rt, 87.16.Xa, 89.75.Kd

* Project supported by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province, China (Grant No. A200911), and the National Basic Research Program of China (Grant No. 2007CB936800).

† E-mail: yongqiangbai@gmail.com