

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ СЕКРЕЦИИ АТР
ВКУСОВЫМИ КЛЕТКАМИ ТИПА II**

© 2020 г. С. С. Колесников*

Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Московская обл., Россия

**e-mail: staskolesnikov@yahoo.com*

Поступила в редакцию 29.01.2020 г.

После доработки 12.02.2020 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

Функциональной единицей вкусовой системы млекопитающих является вкусовая почка, включающая гетерогенную популяцию 50–80 различных клеток, в том числе, вкусовые клетки типа I, II и III. Помимо распознавания вкусовых молекул, вкусовые клетки кодируют сенсорную информацию в форме стимул-зависимой секреции афферентного нейротрансмиттера, стимулирующего вкусовой нерв. Афферентная нейропередача во вкусовых клетках типа II имеет много особенностей, ставящих их особняком в ряду экстерорецепторных клеток, функционирующих в сенсорных органах позвоночных. Так, клетки типа II в качестве нейротрансмиттера используют АТР, высвобождаемый через АТР-проницаемые ионные каналы. Хотя вкусовые клетки не имеют аксонов, клетки типа II электрически возбудимы и процесс секреции нейротрансмиттера контролируется потенциалом действия. Нами разработана математическая модель секреции АТР через потенциал-зависимый АТР-проницаемый ионный канал и проанализирована потенциал-зависимость секреции в стационарном случае и при импульсной стимуляции клетки. Выявленные закономерности секреции АТР позволяют прийти к заключению, что по сравнению с регуляцией выброса АТР градуальным рецепторным потенциалом, электрическая возбудимость вкусовых клеток расширяет динамический диапазон воспринимаемых вкусовых стимулов, обеспечивает большую надежность синаптической передачи и придает ей квантовый характер.

Ключевые слова: вкусовые клетки, секреция АТР, АТР-проницаемый канал, математическое моделирование

DOI: 10.31857/S0869813920040020

Функциональной единицей периферической вкусовой системы млекопитающих является вкусовая почка, формируемая плотно упакованной группой из 50–80 клеток четырех типов, включая вкусовые клетки типа I, II и III и базальные клетки. Эти клетки отличаются морфологически, функционально и на молекулярном уровне. Базальные клетки рассматриваются как прогениторные клетки вкусовой почки, способные дифференцироваться во взрослые вкусовые клетки различных типов. Клетки типа I выполняют преимущественно поддерживающую функцию подобно глиальным клеткам нервной системы [1]. Вкусовые клетки типа II являются основными хемосенсорными клетками вкусовой почки, которые специализируются на распознавании горьких и сладких стимулов и стимулов категории умами

(аминокислоты, рибонуклеотиды, пептиды). Клетки типа III детектируют кислые [2] и некоторые соленые стимулы [3].

Вкусковая трансдукция достаточно хорошо детализирована для клеток типа II. Специфическая химическая чувствительность этих вкусовых клеток обеспечивается двумя семействами поверхностных рецепторов T1R и T2R, принадлежащих к суперсемейству GPCR (G-protein-coupled receptor)-рецепторов [4]. Группу T1R образуют три рецепторных белка T1R1–T1R3, которые формируют гетеродимерный рецептор сладких соединений (T1R2/T1R3) и рецептор аминокислот (T1R1/T1R3) [4]. Семейство T2R включает порядка 30 GPCR-рецепторов, специализирующихся на распознавании горького [4, 5].

Для обеспечения однозначного кодирования вкусовой информации вкусовые клетки типа II формируют функционально непересекающиеся субпопуляции, каждая из которых распознает стимулы только одной вкусовой модальности, т.е. либо горькие, либо сладкие, либо умами [1, 6]. В остальном вкусковая трансдукция в клетках типа II универсальна. Вкусковые GPCR-рецепторы сопряжены специализированными G-белками с фосфолипазой $\text{C}\beta 2$ (PLC $\beta 2$) [1, 6], которая катализирует гидролиз ключевого регуляторного/сигнального липида PIP₂ (phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate), продуцируя тем самым два вторичных медиатора – IP₃ (inositol 1,4,5-trisphosphate) и DAG (diacylglycerol) [7]. Роль DAG в физиологии вкусовых клеток неизвестна, а IP₃ обеспечивает активацию IP₃-рецепторов 3-го типа (IP₃R3) [8, 9], являющихся, как и все IP₃-рецепторы, внутриклеточными, IP₃-активируемыми Ca²⁺ каналами, функционирующими в эндоплазматическом ретикулуме и ответственными за высвобождение депонированного Ca²⁺ [7]. Важным усилительным элементом в клетках типа II являются Ca²⁺-активируемые катионные каналы TRPM5 [10, 11], которые конвертируют стимул-зависимый выброс депонированного Ca²⁺ в градуальный рецепторный потенциал, деполяризующий клетку. Последний инициирует активацию потенциал-зависимых (ПЗ) Na⁺ каналов [12] и генерацию серии потенциалов действия (ПД) [13].

Афферентная нейροпередача во вкусовых клетках типа II имеет много особенностей, ставящих их особняком в ряду экстерорецепторных клеток, функционирующих в сенсорных органах позвоночных. Так, в ответ на стимуляцию хемосенсорные нейроны главного обонятельного эпителия и вомероназального органа генерируют ПД, которые распространяются по аксонам и вызывают секрецию глутамата по экзоцитозному механизму в гломерулах обонятельной луковицы [14]. Фоторецепторные клетки и волосковые клетки в органе Корти не имеют аксонов, электрически невозбудимы и используют градуальный рецепторный потенциал для контроля входа Ca²⁺ и Ca²⁺-зависимого экзоцитоза афферентного нейротрансмиттера глутамата [15].

Вкусковые клетки типа II, в которых классические пресинаптические структуры отсутствуют, коммуницируют с афферентным вкусовым нервом, используя неканонический и во многом уникальный механизм нейροпередачи. В качестве афферентного нейротрансмиттера используется АТФ [16], который секретируется Ca²⁺-независимым образом при участии потенциал-зависимых АТФ-проницаемых ионных каналов [17, 18]. Ключевой субъединицей этого АТФ-проницаемого канала является каналный белок CALHM1 [19], функционирующий в комплексе с CALHM3 [20]. На данный момент неясно, какие эволюционные причины предопределили выбор данного механизма афферентной нейροпередачи сенсорной информации во вкусовой клетке типа II. В частности, неясна физиологическая целесообразность генерации ПД вкусовыми клетками, поскольку у них нет аксона, а значит нет необ-

ходимости дистантной передачи сенсорной информации к ганглиозным нейрональным клеткам.

В настоящей работе представлена модель секреции АТФ через АТФ-проницаемый ионный канал, которая описывает потенциал-зависимость выброса АТФ вкусовыми клетками и объясняет преимущества импульсной секреции, регулируемой ПД, в сравнении с градуальной, управляемой рецепторным потенциалом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ионный канал, проницаемый для молекулы АТФ, должен иметь водную пору достаточно большого диаметра. Действительно, оценки минимального диаметра поры ионного канала, формируемого каналным белком CALHM1, дали величину 14 Å [21], что соответствует характерной размерности АТФ. Поскольку при такой относительно большой поре ионные потоки через этот канал можно считать независимыми, нами было получено следующее транспортное уравнение для нестационарного потока анионов АТФ $J_{\text{АТФ}}(V, t)$ (см. приложение):

$$J_{\text{АТФ}}(V, t) = L[\text{АТФ}]_{\text{in}} \frac{V}{V_0} \frac{G(V, t)}{\exp(V/V_0) - 1}, \quad (1)$$

где $[\text{АТФ}]_{\text{in}}$ – внутриклеточная концентрация АТФ, V – трансмембранный потенциал, $V_0 = RT/zF$, $G(V, t)$ – суммарная проводимость АТФ-проницаемых каналов (далее АТФ-проводимость) в момент времени t при потенциале V , L – константа. Следует отметить, что АТФ может формировать комплексы с различными соединениями, включая основные моно- и дивалентные катионы цитоплазмы. Так, в случае простейшего внутриклеточного раствора, содержащего 1 мМ MgАТФ и 145 мМ KCl, при pH 6.8 и температуре 25°C концентрации основных АТФ-ионов будут: $[\text{АТФ}^{-4}] = 170$ мкМ, $[\text{КАТФ}^{-3}] = 270$ мкМ, $[\text{НАТФ}^{-3}] = 90$ мкМ и $[\text{MgАТФ}^{-2}] = 460$ мкМ. Как видно из приведенных оценок, основным АТФ-анионом является комплекс MgАТФ^{-2} . Для простоты дальнейшего анализа будем считать, что АТФ-проницаемый канал транспортирует АТФ в форме MgАТФ^{-2} [18]. В этом случае в уравнении (1) для $z = 2V_0 = RT/zF \approx 13$ мВ при 25°C.

СТАЦИОНАРНЫЙ СЛУЧАЙ

Для установившегося потока АТФ транспортное уравнение имеет вид:

$$J_{\text{АТФ}}(V) = L[\text{АТФ}]_{\text{in}} \frac{V}{V_0} \frac{G_s(V)}{\exp(V/V_0) - 1}. \quad (2)$$

В стационарном состоянии вероятность открытого состояния как функция мембранного потенциала во многих случаях подчиняется уравнению Больцмана [22]

$$P_o(V) = P_{\text{max}} / (1 + \exp(-(W - QV)/kT)), \quad (3)$$

где $P_o(V)$ – вероятность найти канал в открытом состоянии при потенциале V , P_{max} – максимальная вероятность открытого состояния, W – свободная энергия канала в отсутствие электрического поля, Q – эффективный воротный заряд. Поскольку интегральная проводимость $G = P_o N \gamma$, где N – число каналов проводимости γ , то для стационарной проводимости $G_s(V)$ как функции потенциала справедливо выражение

$$G_s(V) = G_0 / (1 + \exp(-(V - V_g)/V_{g0})), \quad (4)$$

где $G_0 = P_o N \gamma$, $V_g = W/Q$, $V_{g0} = kT/Q$. Параметры V_g и V_{g0} определяют положение зависимости на оси потенциалов и крутизну перехода от минимальной к максимальной

проводимости в области физиологических потенциалов. Оценки для Q , полученные для различных каналов варьируют в пределах от 2 до 13 элементарных зарядов [22–24]. Поскольку $kT/e = 25.7$ мВ при 25°C , то V_{g0} варьирует в пределах 2–13 мВ. Таким образом, для стационарного потока АТР можно записать

$$J_{\text{АТР}}(V) = L[\text{АТР}]_{\text{in}} \frac{V}{V_0} \frac{1}{\exp\left(\frac{V}{V_0}\right) - 1} \frac{G_0}{\exp\left(\frac{V - V_g}{V_{g0}}\right) + 1}. \quad (5)$$

В этом выражении множитель, назовем его фактор Гольдмана F_G ,

$$F_G = \frac{V}{V_0} \frac{1}{\exp\left(\frac{V}{V_0}\right) - 1} \quad (6)$$

получен из весьма общих соображений, отражает пренебрежимо малый уровень АТР во внеклеточном растворе и характеризует транспортные свойства большой водной порой, которые фактически не зависят от молекулярной организации остальной части канала. Иными словами, F_G фактически является физическим инвариантом и зависимость $J_{\text{АТР}}(V)$ от молекулярной организации АТР-проницаемого канала проявляется в варибельности параметров второго множителя, описываемого уравнением (4). Следует отметить, что уравнение (3) является адекватным приближением для вероятности открытого состояния лишь в частном случае ионного канала с двумя состояниями. Тем не менее, производное уравнение (4) хорошо аппроксимирует экспериментальную потенциал-зависимость интегральной проводимости, формируемую самыми разнообразными ионными каналами. В частности, стационарная интегральная проводимость изолированных вкусовых клеток, определяемая в эксперименте [18] (рис. 1А, кружочки) в среднем адекватно аппроксимируется уравнением (3) при $V_g = 31$ мВ и $V_{g0} = 11$ мВ (рис. 1, черная кривая). Следует отметить, что в условиях диализа внутриклеточным раствором CsCl, выходящие ПЗ токи в клетках типа II (рис. 1А) преимущественно переносятся АТР-проницаемыми каналами [18], поэтому далее будем считать, что интегральная ПЗ-проводимость является адекватным приближением для АТР-проводимости.

Как проиллюстрировано на рис. 1А, фактор F_G (синяя кривая) уменьшается, а стационарная АТР-проводимость G_s увеличивается с ростом потенциала V . При значениях параметров $V_g = 31$ мВ и $V_{g0} = 11$ произведение F_G и G_s дает колоколообразную зависимость, представленную черной кривой на рис. 1Б. Следует отметить, что активность рекомбинантного АТР-проницаемого канала CALHM1 сильно зависит от экстраклеточного Ca^{2+} , так что в терминах уравнения (4) параметры интегральной проводимости, детерминируемой CALHM1, варьируют от $V_g = -76$ мВ и $V_{g0} = 40$ мВ в отсутствие Ca^{2+} до $V_g = 82$ и $V_{g0} = 16$ мВ в присутствии 5 мМ Ca^{2+} [25]. Поскольку в условиях плотно упакованной популяции клеток вкусовой почки электрическая активность клеток может приводить к заметным изменениям концентрации экстраклеточных ионов, включая Ca^{2+} , то потенциал-зависимость АТР-проводимости в клетках типа II может заметно варьировать. Мы проиллюстрировали эту возможность, используя транспортную модель в форме уравнения (5) и внося относительно небольшие “ Ca^{2+} -индуцируемые” отклонения параметров уравнения (4). Так, при $V_g = 25$ мВ и $V_{g0} = 14$ мВ, а также $V_g = 40$ мВ и $V_{g0} = 9$ мВ, уравнение (4) дает зависимости, отображенные красной и зеленой кривыми соответственно (рис. 1А). Для этих параметров уравнение (5) дает для потока АТР-зависимости, представленные на рис. 1Б красной и зеленой кривыми. Эти зависимости показывают, что, относительно небольшие девиации потенциал-зависимости про-

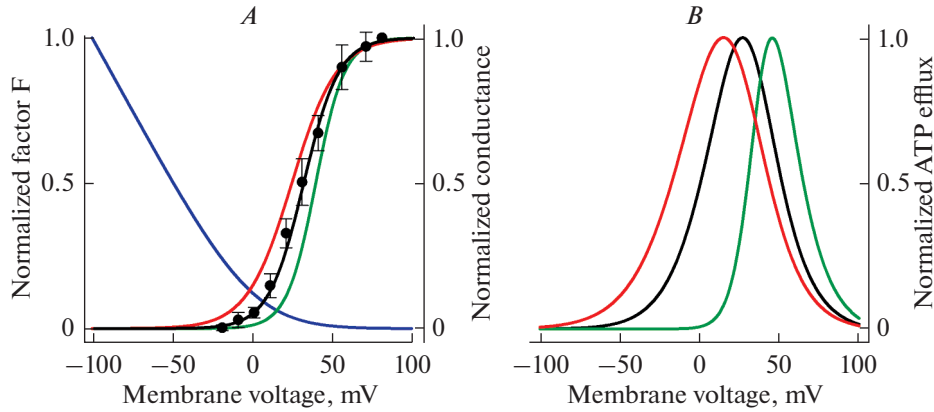


Рис. 1. Зависимость фактора F_G , стационарной АТР-проводимости и потока АТР от потенциала. *A* – $F_G(V)$ рассчитывался по уравнению (6) при $V_0 = 13$ мВ и нормировался на значение фактора при $V = -100$ мВ (синяя кривая). Стационарная АТР-проводимость $G_S(V)$ рассчитывалась по уравнению (4) и нормировалась на значение проводимости при $V = 80$ мВ. Черная кривая, полученная при $V_g = 31$ мВ, $V_{g0} = 11$ мВ, удовлетворительно описывает экспериментальную зависимость (символы). Красная и зеленая кривые генерировались при $V_g = 25$ мВ и $V_{g0} = 14$ мВ и при $V_g = 40$ мВ и $V_{g0} = 9$ мВ соответственно. *B* – Поток АТР, нормированный на максимальное значение, рассчитывался по уравнению (5) при различных $G_S(V)$, показанных в (*A*).

Fig. 1. Factor F_G , steady-state ATP-conductance, and ATP efflux as functions of membrane voltage. *A* – $F_G(V)$ was calculated by using Eq. 6 at $V_0 = 13$ mV and normalized on its value at $V = -100$ mV (blue curve). The steady-state ATP-conductance $G_S(V)$ was calculated based on Eq.4 and normalized on its value at $V = 80$ mV. The black curve, which was obtained at $V_g = 31$ mV, $V_{g0} = 11$ mV, satisfactorily fits the experimental dependence (symbols). The red and green lines were generated at $V_g = 25$ mV and $V_{g0} = 14$ mV and $V_g = 40$ mV and $V_{g0} = 9$ mV, respectively. *B* – ATP efflux normalized on the maximal values was calculated at variable $G_S(V)$ shown in (*A*) by using Eq. 5.

проводимости за счет крутой зависимости фактора F_G от потенциала конвертируются в существенные изменения потенциал-зависимости потока АТР. В частности, для зависимости, иллюстрируемой зеленой кривой, невозможен выброс АТР в области физиологических потенциалов, а значит регуляция секреции этого нейротрансмиттера градуальным рецепторным потенциалом. Эти вычислительные эксперименты показывают, что квази-стационарный поток АТР через АТР-проницаемый канал вряд ли может быть надежным носителем сенсорной информации.

НЕСТАЦИОНАРНЫЙ СЛУЧАЙ

Поскольку в реальности выброс нейротрансмиттера АТР в клетках типа II регулируется стимул-зависимой серией ПД, ниже в рамках транспортного уравнения (1) мы рассмотрим нестационарный поток через АТР-проницаемый канал и проанализируем связь его кинетических параметров и параметров импульсной стимуляции с количеством секретируемого АТР.

Характерной особенностью АТР-проницаемых каналов является их медленная активация в ответ на деполяризацию и медленная деактивация при реполяризации мембраны [18, 25]. Поскольку во вкусовых клетках типа II преимущественно эти каналы ответственны за ПЗ выходящие токи [18, 19], мы на основе экспериментов,

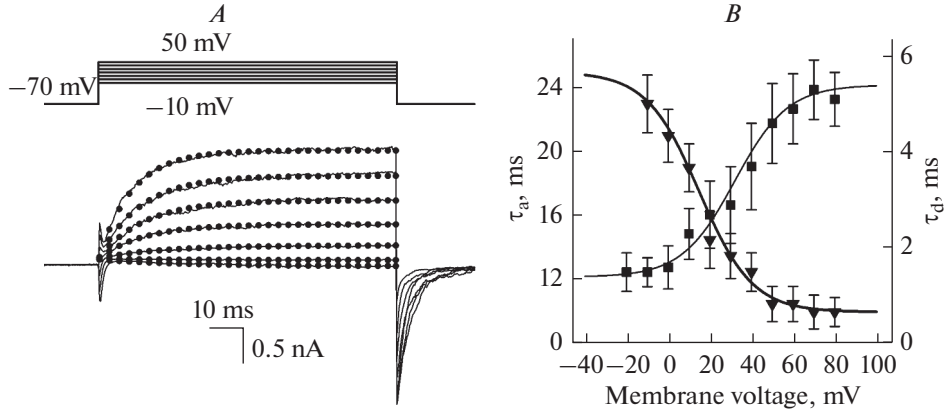


Рис. 2. Кинетические характеристики выходящих ПЗ токов. *A* – типичное семейство ПЗ выходящих токов, стимулируемых деполаризацией клетки типа II 100 мс импульсами до $-10 \dots 50$ мВ. Реполаризация мембраны к -70 мВ инициирует хвостовые токи, обусловленные деактивацией АТР-проницаемых каналов. Черные кружочки соответствуют уравнению (7). *B* – потенциал-зависимость характерных времен активации и деактивации АТР-проницаемых каналов. Символы – экспериментальные данные из работы (18), толстая и тонкая линии получены из уравнения (10) и (11) соответственно.

Fig. 2. Kinetics of outward VG currents *A* – Typical family of VG outward currents stimulated 100-ms pulses depolarizing a type II cell from -10 to 50 mV. The membrane repolarization to -70 mV initiated inward tail currents resulted from inactivation of ATP-permeable channels. The black circles correspond to Eq. 7. *B* – Characteristic times of activation and deactivation of ATP-permeable channels versus membrane voltage. The symbols represent experimental data from the work (18); the thin and thick lines correspond to Eq. 10 and Eq. 11, respectively.

проводившихся ранее [18], анализировали аналитически кинетические характеристики АТР-проницаемых каналов, ответственных за выходящие ПЗ токи в клетках типа II в условиях диализа внутриклеточным раствором CsCl (рис. 2). Деполаризация этих клеток, поддерживаемых при -70 мВ, вызывала быстро инактивирующиеся входящие ПЗ Na^+ токи и медленно активирующиеся выходящие токи [18] (рис. 2*A*). Последние удовлетворительно аппроксимировались уравнением (рис. 2*A*, кружочки):

$$\begin{aligned} I(V, t) &= I_1(V) + (I_s(V) - I_1(V))(1 - \exp(-t/\tau_a)), \\ I_1(V) &= G_1(V - V_1), \\ I_s(V) &= G_s(V)(V - V_{VG}), \end{aligned} \quad (7)$$

где I_1 и I_s – ток утечки и стационарный выходящий ПЗ ток соответственно; G_1 и V_1 – проводимость утечки и потенциал реверсии тока утечки; G_s и V_{VG} – стационарная ПЗ проводимость и потенциал реверсии ПЗ тока. Как было оценено [18], $V_{VG} = 4.2 \pm 1.5$ мВ ($n = 9$) и $G_0 = 55 \pm 7$ нСм ($n = 9$) для стационарной проводимости в уравнении Больцмана (4) для G_s .

Деактивация ПЗ тока в ответ на реполаризацию была практически моноэкспоненциальной, и хвостовые токи (рис. 2*A*) хорошо аппроксимировались уравнением:

$$I_t(V, t) = I_1(V) + I_{tp}(V) \exp(-t/\tau_d), \quad (8)$$

где $I_{tp}(V) = G_s(V)(V_h - V_{VG})$.

Полагая физиологически целесообразным отсутствие секреции АТР при потенциале покоя, из уравнений (7) и (8) следует, что при импульсной стимуляции эволюцию АТР-проницаемости во времени можно описать следующим образом:

$$G(V, t) = \begin{cases} 0 & \text{при } t < 0, \\ G_s(V)[1 - \exp(-t/\tau_a)] & \text{при } 0 \leq t \leq T, \\ G_s(V)[1 - \exp(-T/\tau_d)]\exp((T-t)/\tau_d) & \text{при } t > T. \end{cases} \quad (9)$$

Отметим, что характерные времена активации τ_a и деактивации τ_d ПЗ выходящего тока зависели от потенциала, и для дальнейшего анализа мы аппроксимировали экспериментальные данные аналитическими зависимостями. Экспериментальная зависимость τ_a (рис. 2B, треугольники) аппроксимировалась выражением (рис. 2B), толстая линия):

$$\tau_a(V) = \tau_{a0} + \tau_{a1}/(1 + \exp((V - V_a)/V_{a0})) \quad (10)$$

где $\tau_{a0} = 10$ мс, $\tau_{a1} = 15$ мс, $V_{a0} = 12.7$ мВ, $V_a = 15$ мВ. Аналогичная аналитическая зависимость (Fig. 2B, тонкая линия) использовалась для аппроксимации экспериментальных значений τ_d (Fig. 2B, квадраты):

$$\tau_d(V) = \tau_{d0} - \tau_{d1}/(1 + \exp((V - V_d)/V_{d0})) \quad (11)$$

при $\tau_{d0} = 5.4$ мс, $\tau_{d1} = 4.0$ мс, $V_{d0} = 12.7$ мВ, $V_d = 32$ мВ.

Используя уравнения 1, 7–11 при указанных параметрах, можно вычислить количество АТР, высвобождаемое клеткой через АТР-проницаемые каналы в ответ на импульсную стимуляцию длительностью T , деполяризирующую мембрану от поддерживаемого потенциала V_h до потенциала V . Следует отметить, что в период активации канала в ответ на деполяризацию поток АТР детерминируется потенциалом V . Последний определяет как кинетику активации АТР-проводимости, так и движущую силу для АТР потока, который за время T переносит количество АТР Q_a . В период деактивации канала, вызванной реполяризацией мембраны к поддерживаемому потенциалу (рис. 2A), соответствующий поток АТР происходит при постоянном потенциале V_h , высвобождая количество АТР Q_d . В результате импульсной стимуляции общее количество выброшенного АТР $Q_{\text{АТР}} = Q_a + Q_d$, где

$$Q_a = \int_0^T J_{\text{АТР}}(t, V) dt, \quad Q_d = \int_T^\infty J_{\text{АТР}}(t, V) dt. \quad (12)$$

Комбинируя уравнения 7–12, можно получить следующие соотношения:

$$Q_a(T, V) = L[\text{АТР}]_{in} \frac{V}{V_0} \frac{1}{\exp\left(\frac{V}{V_0}\right) - 1} \frac{G_0}{\exp\left(-\frac{V - V_g}{V_{g0}}\right) + 1} K_a(T), \quad (13)$$

$$Q_d(T, V) = L[\text{АТР}]_{in} \frac{V_h}{V_0} \frac{1}{\exp\left(\frac{V_h}{V_0}\right) - 1} \frac{G_0}{\exp\left(-\frac{V - V_g}{V_{g0}}\right) + 1} K_d(T). \quad (14)$$

где факторы времени стимуляции $K_a(T)$ и $K_d(T)$ определяются как:

$$K_a(T) = T - \tau_a(1 - \exp(-T/\tau_a)), \quad (15)$$

$$K_d(T) = \tau_d(1 - \exp(-T/\tau_d)). \quad (16)$$

Поскольку уравнение (13) с точностью до множителя $K_a(T)$ совпадает с уравнением (5), $Q_a(T, V)$ является колоколообразной функцией потенциала V (рис. 3А, В, красные кривые) при любой длительности стимуляции T . В то же время, в выражении для $Q_a(T, V)$ переменным по V является лишь множитель, описывающий стационарную АТР-проводимость, и в целом $Q_d(T, V)$ является монотонной функцией с насыщением типа изотермы Ленгмюра (рис. 3А, В, синие кривые). Отношение

$$Q_d/Q_a = \frac{V_h \exp(V/V_0) - 1}{V \exp(V_h/V_0) - 1} \frac{\tau_d (1 - \exp(-T/\tau_a))}{T - \tau_a (1 - \exp(-T/\tau_a))}$$

показывает, что относительный вклад потоков АТР в процессе активации АТР-проводимости и ее деактивации является функцией потенциала и длительности стимуляции. При относительно продолжительной стимуляции ($T \gg \tau_a > \tau_d$, $Q_a(T, V)$ доминирует при физиологических потенциалах, и общее количество высвободившегося АТР $Q_{\text{АТР}} = Q_a + Q_d$ является колоколообразной функцией (рис. 3А). При относительно кратковременной стимуляции ($T < \tau_a$) модель предсказывает доминантный вклад $Q_d(T, V)$, и общее $Q_{\text{АТР}}$ является монотонной функцией потенциала (рис. 3В). Следует отметить, что оба предсказания модели подтверждаются в экспериментах (рис. 3С, D), в которых потенциал-зависимость секреции АТР вкусовыми клетками типа II исследовалась методом биосенсора [18].

Теперь рассмотрим физиологические последствия потенциал-зависимости секреции АТР при разных стимуляциях. Следует отметить, что потенциал покоя вкусовых клеток оценивался в нескольких работах и полученные величины лежат в диапазоне $-65 \dots -45$ мВ [26, 27]. Учитывая электрическую возбудимость вкусовых клеток типа II, физиологически целесообразно поддерживать потенциал покоя V_r не выше -50 мВ, чтобы обеспечить достаточно большую фракцию не инактивированных потенциал-зависимых (ПЗ) Na^+ каналов. Это также целесообразно, чтобы минимизировать утечку АТР из покоящихся клеток. Поэтому в качестве достаточно правдоподобной оценки примем $V_r = -55$ мВ. Как следует из анализа выброса АТР в ответ на 2-секундную деполяризацию (рис. 4А), имитирующей действие рецепторного потенциала, градуальная регуляция секреции АТР создает ряд проблем для афферентной синаптической передачи. Во-первых, рецепторный потенциал во вкусовых клетках типа II генерируется при участии катионных каналов TRPM5, примерно в равной степени проницаемых для ионов Na^+ и K^+ и поэтому потенциал реверсии генераторного тока близок к нулю [28]. В силу этого рецепторный потенциал может деполяризовать вкусовую клетку не более чем до 0 мВ (рис. 4А). Потенциал-зависимость секреции АТР такова, что в области градуальных потенциалов $-55 \dots -30$ мВ она пренебрежимо мала, это означает, что рецепторные потенциалы, вызванные малыми и средними по интенсивности вкусовыми стимулами фактически не могли бы инициировать афферентную передачу сенсорной информации. Кроме того, как уже обсуждалось выше, поток АТР, регулируемый градуальным потенциалом, должен быть весьма вариабельным при незначительных сдвигах активационной кривой АТР-проницаемого канала, вызванных изменениями в микроокружении (рис. 1).

Более целесообразной выглядит стратегия кодирования вкусовой информации посредством импульсной секреции АТР при участии ПД. Действительно, порог генерации ПД во вкусовых клетках лежит в области -45 мВ [18] и поэтому пороговому вкусовому стимулу достаточно сдвинуть мембранный потенциал на величину порядка 10 мВ. Важной особенностью ПД-регулируемой секреции является то, что потенциал-зависимость выброса АТР описывается кривой с насыщением (рис. 4В), с плато в области характерных величин ПД [18]. Для такой зависимости небольшие

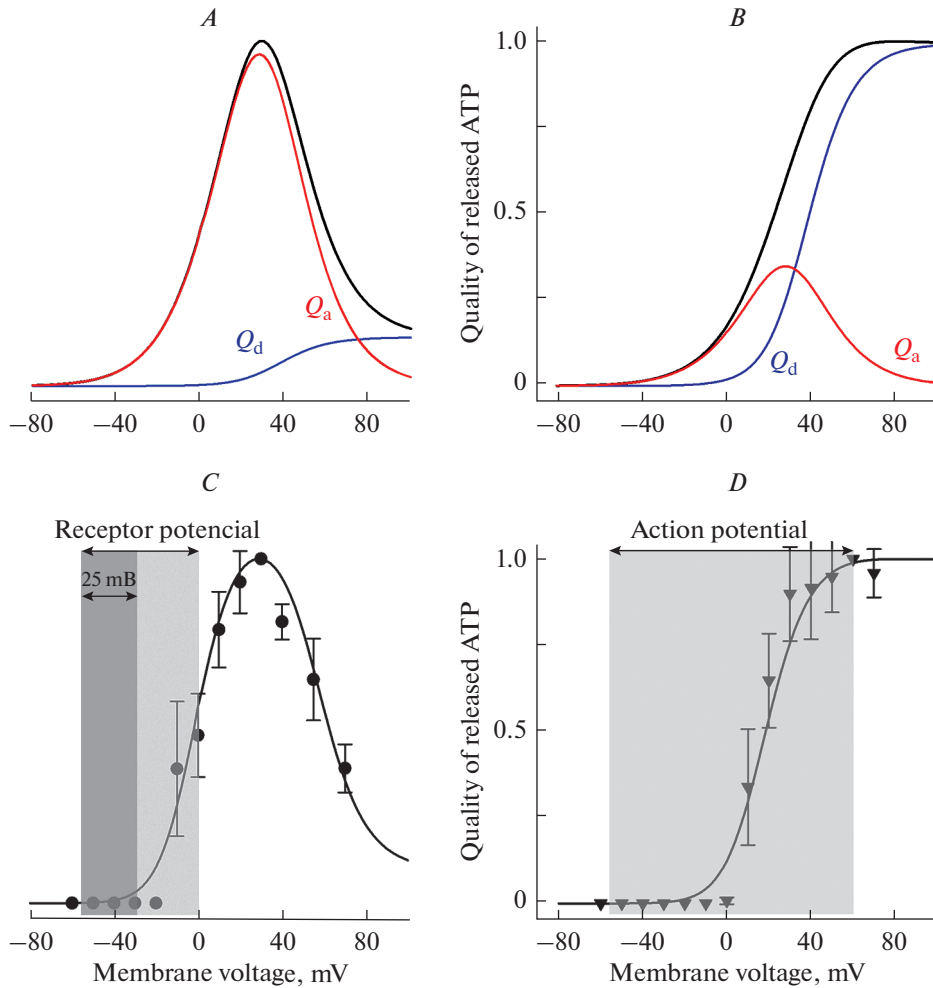


Рис. 3. Зависимость количества секретируемого АТФ от величины деполяризующего импульса и его длительности. *A, B* – черные кривые, теоретическое значение $Q_{\text{АТФ}} = Q_a + Q_d$ при деполяризации в течение 2 с (*A*) и 100 мс (*B*) импульсом потенциала от -70 мВ до $-60 \dots 90$ мВ; красная и синяя кривые – Q_a и Q_d как функции деполяризующего потенциала. Величины Q_a и Q_d вычислялись с использованием уравнений (13) и (14) соответственно. *C, D* – экспериментально оцененное [18] количество АТФ (символы), выброшенное вкусовой клеткой типа II при данном потенциале при импульсной деполяризации в течение 2 с (*C*) и 100 мс (*D*). В (*C*) темно-серая полоса обозначает область деполяризующих потенциалов, в которой секреция АТФ пренебрежимо мала.

Fig. 3. ATP release depending on a value and duration of a depolarizing pulse. *A, B* – Black curves represent $Q_{\text{ATP}} = Q_a + Q_d$ calculated at 2-s (*A*) and 100-ms (*B*) depolarization from -70 mV to $-60 \dots 90$ mV; the red and blue curves represent Q_a and Q_d calculated at different membrane voltages by using Eq. 13 and Eq. 14, respectively. *C, D* – Voltage dependence of experimentally evaluated [18] quantity of ATP (symbols) released by taste cells of the type II upon 2-s (*C*) and 100-ms (*D*) pulse depolarization. In (*C*), the dark-gray strip highlights the range of membrane voltages, wherein ATP secretion is negligible.

сдвиги активационной кривой АТР-проницаемого канала практически не скажутся на секреции АТР. Кроме того, в силу своей кратковременности и универсальности формы, каждый ПД должен инициировать выброс лишь незначительного, но одинакового количества АТР, детерминируя квантовый характер секреции нейротрансмиттера, как это имеет место в классических химических синапсах. В этом случае сенсорная информация кодируется количеством ПД, генерируемых пропорционально интенсивности вкусового стимула.

Таким образом, рассмотренные выше закономерности секреции АТР через АТР-проницаемый ионный канал позволяют прийти к заключению, что по сравнению с регуляцией выброса АТР градуальным рецепторным потенциалом, электрическая возбудимость вкусовых клеток обеспечивает более надежную синаптическую передачу и более широкий динамический диапазон воспринимаемых вкусовых стимулов.

Приложение

Ионный канал, проницаемый для молекулы АТР, должен иметь водную пору, достаточно большого диаметра. Действительно, оценки минимального диаметра поры ионного канала, формируемого канальным белком CALHM1, дали величину 14 Å (21), что соответствует характерной размерности АТР. При такой относительно большой поре ионные потоки через канал CALHM1 можно описывать в приближении независимых потоков, используя уравнение GHK (Goldman–Hodgkin–Katz):

$$I_S = P_S z_S^2 \frac{F^2 V}{RT} \frac{[S]_{in} - [S]_{out} \exp(-z_S FV/RT)}{1 - \exp(-z_S FV/RT)}. \quad (1П)$$

Где R , T , и F – газовая постоянная, абсолютная температура и число Фарадея, соответственно; I_S – ионный ток переносимый ионом S , P_S – проницаемость канала для этого иона, z_S – заряд иона, V – трансмембранный потенциал, $[S]_{in}$ и $[S]_{out}$ – внутриклеточная и внеклеточная концентрация иона. С учетом уравнения (1П) ток аниона АТР через одиночный АТР-проницаемый канал будет иметь вид

$$i_{ATP} = P_{ATP} z^2 \frac{F^2 V}{RT} \frac{[ATP]_{in} - [ATP]_{out} \exp(zFV/RT)}{1 - \exp(zFV/RT)}, \quad (2П)$$

Тогда для нестационарного потока АТР $J_{ATP}(V, t)$ получаем следующее выражение:

$$J_{ATP}(V, t) = -I_{ATP}/ze = -i_{ATP}NP(V, t)/ze, \quad (3П)$$

где I_{ATP} – величина интегрального тока, переносимого анионами АТР; e – элементарный заряд; z – абсолютный заряд аниона АТР, N – число АТР-проницаемых каналов; $P(V, t)$ – нестационарная вероятность открытого состояния канала при данном потенциале V . Поскольку при физиологических условиях АТР-анионы переносят небольшую фракцию ионного тока через АТР-проницаемые каналы, уравнение (3П) преобразовывается к виду:

$$J_{ATP}(V, t) = L[ATP]_{in} \frac{V}{V_0} \frac{1 - r \exp(V/V_0)}{\exp(V/V_0) - 1} G(V, t), \quad (4П)$$

где $L = P_{ATP}F/\gamma e$, γ – проводимость одиночного АТР-проницаемого канала; $V_0 = RT/zF$; $r = [ATP]_{out}/[ATP]_{in}$, $G(V, t) = \gamma NP(V, t)$ – интегральная проводимость N

АТФ-проницаемых каналов. Учитывая, что внутриклеточная концентрация АТФ превышает внеклеточную на 3–4 порядка, величина $r = [\text{АТФ}]_{\text{out}}/[\text{АТФ}]_{\text{in}}$ близка к нулю, и получаем следующее окончательное выражение для потока АТФ:

$$J_{\text{АТФ}}(V, t) = L[\text{АТФ}]_{\text{in}} \frac{V}{V_0} \frac{G(V, t)}{\exp(V/V_0) - 1}. \quad (5\text{П})$$

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант 18-14-00347).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Roper S.D., Chaudhari N.* Taste buds: cells, signals and synapses. *Nat. Rev. Neurosci.* 18: 485–497. 2017.
2. *Huang Y.A., Maruyama Y., Stimac R., Roper S.D.* Presynaptic (Type III) cells in mouse taste buds sense sour (acid) taste. *J. Physiol.* 586: 2903–2912. 2008.
3. *Oka Y., Butnaru M., von Buchholtz L., Ryba N.J., Zuker C.S.* High salt recruits aversive taste pathways. *Nature.* 494: 472–475. 2013.
4. *Chandrashekar J., Hoon M.A., Ryba N.J., Zuker C.S.* The receptors and cells for mammalian taste. *Nature.* 444: 288–294. 2006.
5. *Behrens M., Meyerhof W.* Vertebrate bitter taste receptors: Keys for survival in changing environments. *J. Agric. Food Chem.* 66: 2204–2213. 2018.
6. *Zhang Y., Hoon M.A., Chandrashekar J., Mueller K.L., Cook B., Wu D., Zuker C.S., Ryba N.J.P.* Coding of sweet, bitter, and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell.* 112: 293–301. 2003.
7. *Berridge M.J.* The inositol trisphosphate/calcium signaling pathway in health and disease. *Physiol. Rev.* 96: 1261–1296. 2016.
8. *Clapp T.R., Stone L.M., Margolskee R.F., Kinnamon S.C.* Immunocytochemical evidence for co-expression of Type III IP3 receptor with signaling components of bitter taste transduction. *BMC Neurosci.* 2: 6. 2001.
9. *Miyoshi M.A., Abe K., Emori Y.* IP(3) receptor type 3 and PLCbeta2 are co-expressed with taste receptors T1R and T2R in rat taste bud cells. *Chem. Senses.* 26: 259–265. 2001.
10. *Perez C.A., Huang L., Rong M., Kozak J.A., Preuss A.K., Zhang H., Max M., Margolskee R.F.* A transient receptor potential channel expressed in taste receptor cells. *Nat. Neurosci.* 5: 1169–1176. 2002.
11. *Hofmann T., Chubanov V., Gudermann T., Montell C.* TRPM5 is a voltage-modulated and Ca^{2+} -activated monovalent selective cation channel. *Curr. Biol.* 13: 1153–1158. 2003.
12. *Gao N., Lu M., Echeverri F., Laita B., Kalabat D., Williams M.E., Hevezi P., Zlotnik A., Moyer B.D.* Voltage-gated sodium channels in taste bud cells. *BMC Neurosci.* 10: 20. 2009.
13. *Yoshida R., Sanematsu K., Shigemura N., Yasumatsu K., Ninomiya Y.* Taste receptor cells responding with action potentials to taste stimuli and their molecular expression of taste related genes. *Chem. Senses.* 30 (suppl 1): i19–i20. 2005.
14. *Wilson R.I., Mainen Z.F.* Early events in olfactory processing. *Annu. Rev. Neurosci.* 29: 163–201. 2006.
15. *Matthews G., Fuchs P.* The diverse roles of ribbon synapses in sensory neurotransmission. *Nat. Rev. Neurosci.* 11: 812–822. 2010.
16. *Finger T.E., Danilova V., Barrows J., Bartel D.L., Vigers A.J., Stone L., Hellekant G., Kinnamon S.C.* ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves. *Science* 310: 1495–1499. 2005.
17. *Romanov R.A., Rogachevskaja O.A., Bystrova M.F., Jiang P., Margolskee R.F., Kolesnikov S.S.* Afferent neurotransmission mediated by hemichannels in mammalian taste cells. *EMBO J.* 26: 657–667. 2007.
18. *Romanov R.A., Rogachevskaja O.A., Khokhlov A.A., Kolesnikov S.S.* Voltage dependence of ATP secretion in mammalian taste cells. *J. Gen. Physiol.* 132: 731–744. 2008.
19. *Taruno A., Vingdteux V., Ohmoto M., Ma Z., Dvoryanchikov G., Li A., Adrien L., Zhao H., Leung S., Ab-ernethy M., Koppel J., Davies P., Civan M.M., Chaudhari N., Matsumoto I., Hellekant G., Tordoff M.G., Marambaud P., Foskett J.K.* CALHM1 ion channel mediates purinergic neurotransmission of sweet, bitter and umami tastes. *Nature.* 495: 223–226. 2013.
20. *Ma Z., Taruno A., Ohmoto M., Jyotaki M., Lim J.C., Miyazaki H., Niisato N., Marunaka Y., Lee R.J., Hoff H., Payne R., Demuro A., Parker I., Mitchell C.H., Henao-Mejia J., Tanis J.E., Matsumoto I.,*

- Tordoff M.G., Foskett J.K.* CALHM3 is essential for rapid ion channel-mediated purinergic neurotransmission of GPCR-mediated tastes. *Neuron*. 98: 547–561. 2018.
21. *Ma Z., Tanis J.E., Taruno A., Foskett J.K.* Calcium homeostasis modulator (CALHM) ion channels. *Pflugers Arch*. 468: 395–403. 2016.
 22. *Hille B.* Ion channels of excitable membranes. Sinauer Associates. Sunderland. Massachusetts. USA, 3rd edition. 2001.
 23. *Gonzalez D., J.M. Gomez-Hernandez L.C. Barrio.* 2007. Molecular basis of voltage dependence of connexin channels: An integrative appraisal. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 94: 66–106.
 24. *Bezanilla F.* The voltage sensor in voltage-dependent ion channels. *Physiol. Rev.* 80: 555–592. 2000.
 25. *Ma Z., Siebert A.P., Cheung K.H., Lee R.J., Johnson B., Cohen A.S., Vingtdoux V., Marambaud P., Foskett J.K.* Calcium homeostasis modulator 1 (CALHM1) is the pore-forming subunit of an ion channel that mediates extracellular Ca²⁺ regulation of neuronal excitability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 109: E1963–E1971. 2012.
 26. *Romanov R.A., Rogachevskaja O.A., Bystrova M.F., Kolesnikov S.S.* Electrical excitability of taste cells. Mechanisms and possible physiological significance *Biochemistry (Moscow). Suppl. Series A: Membrane and Cell Biology.* 6: 169–185. 2012.
 27. *Ma Z., Saung W.T., Foskett J.K.* Action potentials and ion conductances in wild-type and CALHM1-knockout Type II taste cells. *J. Neurophysiol.* 117: 1865–1876. 2017.
 28. *Zhang Z., Zhao Z., Margolskee R., Liman E.* The transduction channel TRPM5 is gated by intracellular calcium in taste cells. *J. Neurosci.* 27: 5777–5786. 2007.

Mathematical Model of ATP Secretion in Taste Cells of the Type II

S. S. Kolesnikov*

Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow oblast, Russia
*e-mail: staskolesnikov@yahoo.com

The taste bud, a functional unit of the peripheral mammalian taste system, consists of 50–80 densely packed cells of several types, including taste cells of the type I–III. Apart from identifying tastant molecules, taste cells encode sensory information in the form of stimulus-dependent release of an afferent neurotransmitter stimulating the taste nerve. The afferent neurotransmission in type II cells is rather peculiar compared to exteroceptors operating in other sensory organs of vertebrates. In particular, taste cells of the type II employ ATP as an afferent neurotransmitter and release it via ATP-permeable ion channels. Although taste cells are axonless, type II cells are electrically excitable, and neurotransmitter secretion is controlled by action potentials. Here we elaborated a mathematical model of ATP release with a voltage-gated ATP-permeable channel as a conduit of ATP efflux. Based on this model, we analyzed a voltage dependence of steady-state ATP release as well as transient ATP secretion stimulated by a voltage pulse. These computer simulations revealed certain features of channel-mediated ATP secretion that led us to the following inference. Compared to ATP release mediated by gradual receptor potential, the electrical excitability of type II cells provides the higher reliability of synaptic transmission, renders it quantal, and widens a dynamic range of detectable taste stimuli.

Keywords: taste cells, ATP secretion, ATP-permeable channel, mathematical modeling

ЦИТИРОВАТЬ:

Колесников С.С. Математическая модель секреции АТФ вкусовыми клетками типа II. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 106(4): 521–532.
DOI: 10.31857/S0869813920040020

TO CITE THIS ARTICLE:

Kolesnikov S.S. Mathematical Model of ATP Secretion in Taste Cells of the Type II. *Russian Journal of Physiology.* 106(4): 521–532.
DOI: 10.31857/S0869813920040020