



骨骼肌收缩的生物电化学变频调控原理——基于分子马达运行机制的骨骼肌生物力学原理(II)

殷跃红*, 陈幸

上海交通大学机器人研究所, 机械系统与振动国家重点实验室, 上海 200240

* E-mail: yhyin@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2011-08-24; 接受日期: 2011-12-26

国家自然科学基金(批准号: 61075101/60643002)、国家重点基础研究发展计划(“973”计划)(批准号: 2011CB013203)、上海交通大学理工交叉研究基金重点项目和医工交叉研究基金重大项目(批准号: YG2010ZD₁01)资助

摘要 以骨骼肌肌纤维中的肌小节为对象, 建立了肌膜动作电位活动与由动作电位引发的肌小节内 Ca^{2+} 浓度变化的生物电化学模型, 并给出了相应的数学描述; 以此模型为基础, 从控制学角度阐明了由分子马达集体运作产生的肌纤维稳态收缩功率的调控方式, 即作为控制信号的动作电位如何调控作为驱动信号的 Ca^{2+} 浓度, 及其间接调控肌纤维等长收缩力的原理与相关特性, 并设计实验对收缩力与动作电位激励频率之间的关系进行了验证; 相应地, 本文进一步阐述了动作电位对肌纤维的动态收缩功率的调控方式是变频控制, 并导出了从动作电位频率变化到肌小节内 Ca^{2+} 浓度变化的传递函数, 分析了肌纤维收缩的频域特性. 另一方面, 由理论分析的结果出发, 提出了表征从控制信号触发到肌纤维开始收缩的最小滞后时间——“机电时间常数”的概念, 最后讨论了肌纤维收缩的变频控制方式的物理内涵及其合理性.

关键词

分子马达
肌纤维
动作电位
 Ca^{2+} 浓度
调控原理

自从 Hill 模型^[1]诞生以来, 对于骨骼肌宏观收缩特性的研究已取得了深入的进展, 对肌肉力学特性的测量与建模也越来越精细^[2-5]. 一般而言, 骨骼肌收缩的宏观特性可通过等长收缩、等负载收缩等途径进行研究, 所测量的物理量包括肌小节长度、收缩力、收缩位移以及收缩速度等; 这些物理量的耦合关系给出了肌肉做功时的动力学特征. 另一方面, Huxley 等人对骨骼肌收缩的微观机理揭示作出了重要贡献^[6, 7], 并提出了著名的肌丝滑动理论^[8]. 骨骼肌的微观研究主要基于离体实验方法, 研究的尺度可以是肌纤维、肌小节、粗(细)肌丝或者是单分子. 离体微观实验的优点在于可以人为地控制对象组织所

处的胞浆环境(包括溶液成分), 并且除了可以测量张力、位移等物理量, 还可以得到膜电位与各离子的浓度等信息, 从而分辨出影响肌肉收缩特性的因素. 这些研究表明 ATP 与 Ca^{2+} 对肌肉的收缩必不可少^[9], 因为细肌丝上的肌钙蛋白需要与 Ca^{2+} 结合, 以令其与粗肌丝上肌球蛋白结合的位点暴露, 让横桥得以形成; 而肌球蛋白需要消耗 ATP 水解产生的能量才得以拉动细肌丝做功, 因此从微观上讲, 相应的浓度——[ATP]与 $[\text{Ca}^{2+}]$ 直接影响了肌纤维中分子马达集体运作的统计力学特性, 从而决定了肌肉做功的功率; 并且在肌肉的正常工作过程中, [ATP]基本稳定, 而 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的变化则表征了肌肉的驱动信号; 与之对应,

英文版发表信息: Yin Y H, Chen X. Bioelectrochemical control mechanism with variable-frequency regulation for skeletal muscle contraction—Biomechanics of skeletal muscle based on the working mechanism of myosin motors (II). Sci China Tech Sci, 2012, 55: 2115–2125, doi: 10.1007/s11431-012-4777-x

由于肌膜上的动作电位决定了 Ca^{2+} 释放的开始与停止, 即动作电位的特性调控了 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的变化, 因此肌纤维上的动作电位表征了肌肉运动的控制信号。

如前所述, 人们对骨骼肌收缩的宏观及微观机理已有了较清楚的认识, 并且也给出了表征控制信号的肌膜动作电位如何转化为驱动信号的物理解释^[10], 也有很多研究揭示了 $[\text{Ca}^{2+}]$ 与肌肉收缩力、以及动作电位激励频率与肌肉收缩力之间的关系; 然而时至今日, 动作电位的波动特性与 $[\text{Ca}^{2+}]$ 变化之间的关系仍未被阐明, 亦即是说, 对于控制信号如何调控驱动信号的控制学原理的理解还十分粗糙; 若缺少这一环节, 将对描述肌纤维之间如何协同工作以及运动意图如何实现带来困难, 因此, 阐明这个调控原理关系到骨骼肌动力学从微观到宏观的统一. Cannell 与 Allen^[11]曾对肌小节中的 Ca^{2+} 运动进行了计算建模, 但其目的是描述肌小节中 $[\text{Ca}^{2+}]$ 梯度随时间变化的特性以及估计 Ca^{2+} 指示剂的测量误差, 而并未从控制原理的角度挖掘模型的深层含义; 另一方面, 由于当时计算手段的局限性以及对肌小节结构知识的缺乏, 模型的仿真结果略显粗糙. 针对动作电位频率与肌小节收缩力之间关系的研究大多基于实验, 其中包括对动物心肌纤维的研究^[12], 这些工作并未提炼出精细的理论模型, 更未提及控制原理, 因此这些研究与肌肉的运动控制联系不紧密. 为了解决以上问题, 本文从骨骼肌肌纤维的生理结构出发, 旨在建立由动作电位到 Ca^{2+} 释放以及 $[\text{Ca}^{2+}]$ 扩散过程的完整生物电化学模型, 并讨论骨骼肌的控制信号调控驱动信号的方式及特性, 从而间接地给出动作电位如何控制肌肉收缩力的描述, 对文献[13]中的分子马达集体运作的统计模型加以验证.

1 肌纤维膜的动作电位建模

从肌肉收缩的流程来看, 运动神经元产生的动作电位通过神经-肌肉接头在肌纤维膜上感生出新的动作电位, 而此动作电位便表征了肌肉的控制信号. 如图 1 所示, 肌纤维由约 2000 根肌原纤维构成(只画出一根), 并且每根肌原纤维都被肌质网(SR)包裹, 肌质网在纵向上存在周期性的称作横管(T 管)的组织, 对哺乳动物而言, 每个肌小节含有两圈 T 管, 位于其 A 带与 I 带的交界处^[13]; T 管周期性地延伸至肌纤维膜上的开口, 因此 T 管中实际上充盈着细胞外液, 正

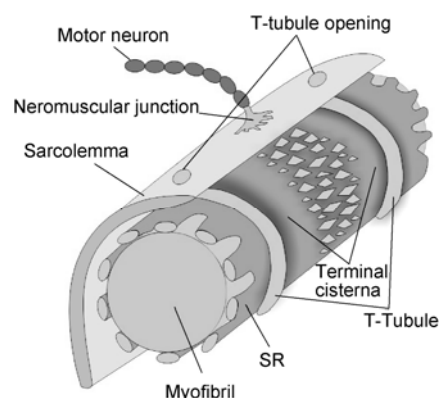


图 1 肌纤维结构

因如此, T 管组织可将肌膜表面的动作电位传导到肌纤维深处的肌原纤维中, 激活整条肌纤维. T 管两边存在肌质网的膨大部分, 被称为终池, T 管与终池之间通过大量电压敏感型的 Ca^{2+} 通道(DHPR)^[14]以及雷诺啉通道(RYR)^[15]相连接, 因此当 T 管感受到动作电位后, 终池的 Ca^{2+} 通道将迅速打开, 以使高浓度 Ca^{2+} 扩散至肌小节内部, 与细肌丝的肌钙蛋白结合, 启动分子马达工作. 终池上还大量存在被称作 Ca-ATP 酶的重要蛋白^[16], 它实际上是极其高效的 Ca^{2+} 泵, 能将已扩散至肌小节内部的 Ca^{2+} 回收至终池, 使肌节内部的 $[\text{Ca}^{2+}]$ 在刺激结束后迅速下降至静息值. 虽然肌纤维膜上也存在其他种类的 Ca^{2+} 泵, 但在肌肉正常工作的过程中, Ca-ATP 酶的活动起到了主导作用.

肌膜的静息电位约为 -85 mV , 其上 Na^+ 通道开启的阈值电位比静息电位高 14 mV 左右, 并且动作电位的峰值约 39 mV ^[17]. 动作电位沿着肌纤维横向传播的速度约 4 m/s , 从肌膜表面向肌纤维中心传递的速度约为每秒数厘米^[18], 因此不同肌原纤维中各个肌小节的激活并不同时, 为了得到单个肌小节的驱动特性, 取最靠近肌膜的肌原纤维作为建模对象. 建模的目的是得到肌膜动作电位形态的数学描述, 为考察它对 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的影响奠定基础, 因为单个动作电位的持续时间直接影响了 SR 上 Ca^{2+} 通道开启的时间. 肌膜电活动的物理基础是 Na^+ 流充入胞膜与 K^+ 流逸出胞膜, 这由 Na^+ 通道与 K^+ 通道的开闭控制, 而肌膜的瞬时电位由其内外的电荷密度(不同离子的浓度)决定. 值得注意的是, 对肌纤维来说, 电压敏感型 Na^+ 通道分布在肌膜表面, 而绝大多数电压敏感型 K^+ 通道则集中在 T 管上. 正是基于这样的通道分布特性, 可将图 1 中的肌纤维膜与所考虑的圆柱形肌原纤维

展平, 并取两相邻 T 管间的胞浆(肌膜与 SR 之间的胞浆)为建模区域, 如图 2 所示. 不失一般性, 可取此区域的中心点作为膜内离子浓度的参考点(膜外各离子的浓度基本恒定), 亦即是说, 肌膜上各点的膜电位可由相邻 T 管之间中心位置点的电位来表征. 对离子浓度(膜电位)参考点来说, 一旦动作电位到达此点, 其电位立刻跃至峰值, 其下降速率则由 K^+ 扩散至胞外的速率决定, 而此速率直接跟 T 管上的 K^+ 通道密度相关, 即通道密度越大, 扩散越快. 在分析时用单位面积上的 K^+ 通道开口总面积与 T 管壁面积的比值来表征通道密度, 设其为 η_K . T 管上的 K^+ 通道感受到电位升高后将迅速打开, 在 K^+ 的外流过程中, 胞浆中的 K^+ 首先充入 T 管, 紧接着通过肌膜上的 T 管开口扩散到细胞外, 也就是说, T 管开口处的 K^+ 扩散速率直接影响了胞浆中的 $[K^+]$ 下降快慢. 设 $[K^+]$ 为 n_K , 从胞浆到 T 管的 K^+ 扩散流为 J_T , 则由扩散动力学, J_T 由 T 管壁面处的浓度梯度决定:

$$J_{\text{T}} = -D_{\text{K}} \frac{\partial n_{\text{K}}}{\partial r}, \quad (1)$$

式中 D_K 为胞浆中 K^+ 的扩散系数, $D_K = \mu k_B T$, 其中 μ 为相关粒子的漂移速率, 且 $\mu = d/m_k$, τ 为粒子布朗运动的平均碰撞时间间隔, 在动物体温下的胞浆环境中, 可近似认为粒子的平均自由程在 $\text{\AA}$ 级以下, 由能量均分定理可算得 τ 约为 $1.8 \times 10^{-13} \text{ s}$; m_k 为 K^+ 的质量, 约为 $6.477 \times 10^{-26} \text{ kg}$; k_B 为波兹曼常数, 值为 $1.38 \times 10^{-23} \text{ J/K}$, T 取 310.15 K , 为人体温度; 因此可算得 D_K 的数值约为 1.196×10^{-8} ; (1) 式中 r 代表 T 管的径向方向, T 管内的 $[K^+]$ 随时间变化的关系为

$$\frac{\partial n_K}{\partial t} = -J_T \frac{\eta_K A}{V_T}, \quad (2)$$

其中 A 为 T 管壁面总面积, V_T 为单根 T 管体积. 由(2)

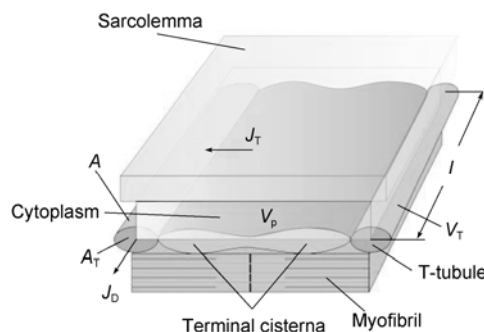


图2 肌膜胞浆区域的 $[K^+]$ 计算模型

式, $[K^+]$ 可写为

$$n_K = \frac{\eta_K A}{V_T} |J_T| t + \text{Const.} \quad (3)$$

由(3)式可见,在同一时刻与同一 T 管径向位置处, n_K 与 η_K 成正比. 另一方面,胞浆区域中的 K^+ 流失速率取决于 T 管开口处的扩散速率,而此扩散速率取决于开口处的 $[K^+]$ 梯度,因此 T 管中的 $[K^+]$ 越高,此处的浓度梯度也越大. 即开口处的 $[K^+]$ 梯度也与 η_K 成正比. 开口处的 K^+ 扩散流为

$$J_D = -D_K \frac{\partial n_K}{\partial x} \bigg|_{x=l_0}, \quad (4)$$

式中 x 代表 T 管的环长方向, l_T 为 T 管的环长, 之前提到 T 管环绕于肌原纤维上, 由于肌原纤维直径为 $1\sim 2\text{ }\mu\text{m}$, 取其均值 $1.5\text{ }\mu\text{m}$, 则 l_T 约为 $4.712\text{ }\mu\text{m}$. 相应的, 胞浆区域内的 $[\text{K}^+]$ 随时间变化的关系可写为

$$\frac{\partial n_K}{\partial t} = -J_D \frac{A_T}{V_r} = -J_D \frac{1}{L}, \quad (5)$$

其中 A_T 为 T 管横截面积, 其值须由 T 管的生理几何参数计算^[13], 因其截面可近似为长 125 nm, 宽 25 nm 的矩形, 故 $A_T = 3.1 \times 10^{-3} \mu\text{m}^2$. V_p 为图 2 中胞浆区域的体积, 由于相邻两 T 管的间距约为肌小节长度 (2.2 μm) 的一半^[2], 取其为 1 μm , 又因肌膜与 SR 之间的层厚不到 3 nm, 取其为 2.5 nm, 则可得到 V_p 约为 $11.78 \times 10^{-3} \mu\text{m}^3$. $L = V_p/A_T$ 为一等效长度, 易算得 $L = 3.78 \mu\text{m}$. 由扩散动力学的特性以及前文所述的浓度梯度与 η_k 的正比关系, 可设(4)式中的梯度随时间以指数形式衰减:

$$\left. \frac{\partial n_K}{\partial x} \right|_{x=l} = -\eta_K a_1 \exp(-b_1 t), \quad (6)$$

其中 a_1 为常数, 且 $a_1 > 0$, 衰减系数 $b_1 > 0$, 二者皆为待定参数. 将(6)式代入(5)式并积分后得到胞浆区域的 $[K^+]$ 为

$$n_K = \frac{D_K \eta_K a_1}{L b_1} \exp(-b_1 t) + \text{Const.} \quad (7)$$

肌膜内外的 $[K^+]$ 分别为160 mmol/L与4 mmol/L^[9], 因此当(7)式中的 t 趋于无穷时, $n_K = 4$ mmol/L, 得到 $Const. = 4$ mmol/L; 当 $t = 0$ 时, $n_K = 160$ mmol/L, 得到 $D_K \eta_K a_1 / (Lb_1) = 156$, 可见由于 D_K, a_1 及 L 都是常数, 则 η_K 越大, 指数衰减系数 b_1 也越大. 另外, 当 $t = 0$ 且 $\eta_K = 1$ 时, T管内外的 $[K^+]$ 梯度应为最大值, 设为 S_0 , 得到 $a_1 = |S_0| = 156/\lambda$, 其中 λ 为浓度衰减距离(经过此

距离 $[K^+]$ 从膜内值衰减至膜外值). 另一方面, 由于膜电位的数值是膜内外的电势差, 故其实质上可认为是胞膜内外的等效正离子浓度差, 且与之近似成正比关系:

$$E_m = \eta_E (\Delta[Na^+] + \Delta[K^+] + E_r), \quad (8)$$

式中 E_m 为膜电位, 单位为 mV; η_E 为比例常数, 通过静息态下膜电位与膜内外 Na^+ , K^+ 浓度关系的校准, 可得 $\eta_E \cong 1$; $\Delta[Na^+]$ 与 $\Delta[K^+]$ 分别为膜内的 $[Na^+]$ 变化量与 $[K^+]$ 变化量, 对肌膜来说, 膜内静息 $[Na^+]$ 约为 10 mmol/L^[19], 动作电位发生时达到 135 mmol/L, 因此 $\Delta[Na^+] = 125$ mmol/L, $\Delta[K^+] = n_K - 160$ mmol/L. E_r 为肌膜的静息电位 (-85 mV). 对动作电位仿真时取 $\lambda = 1 \mu m$, 可得到 η_K 从 0.1 变化到 0.5 时动作电位的波形如图 3 所示. 由图可见通道密度越大, 动作电位下降越快, 且随着 η_K 越来越接近于 1, 动作电位形态逐渐收敛; 如前所述, 已知 T 管上的 K^+ 通道密度很高, 故可取 $\eta_K = 0.5$. 若设 SR 上的 Ca^{2+} 通道开放的条件为膜电位超过动作电位爆发的阈值 (-71 mV, 图 3 中水平线), 则由于 Ca^{2+} 通道失活非常缓慢, 明显可见其开放时间直接与动作电位的时程相关, 对于所考虑的 $\eta_K = 0.5$ 的情形, 此时间间隔约为 1.8 ms; 另外, 此时的动作电位波形可拟合为以下函数:

$$E_{AP} = \frac{t}{a_2} \exp(-t/b_2) + c_2, \quad (9)$$

其中 $a_2 = 1.569 \times 10^{-6}$, $b_2 = 5.016 \times 10^{-4}$, $c_2 = -85$. (9) 式描述了肌膜某点上单个动作电位的动态特性.

2 动作电位引起的肌小节内 $[Ca^{2+}]$ 变化

若考虑单个肌小节, 相对于动作电位传递的纵向及横向速度, 其尺寸十分小, 因此可忽略动作电位

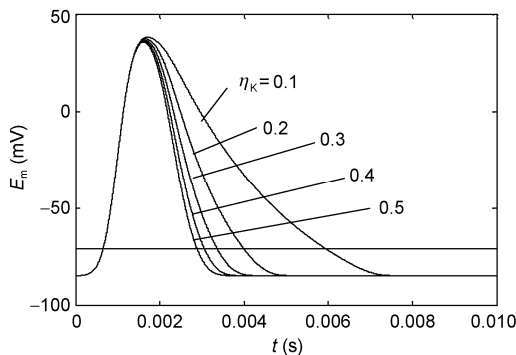


图 3 不同 $[K^+]$ 通道密度下的动作电位波形

在 T 管上的传递时间, 并认为只要膜电位高于 Ca^{2+} 通道开放的阈值, SR 上的 Ca^{2+} 通道便几乎全部开启. 肌小节内的 $[Ca^{2+}]$ 在静息时约为 10^{-4} mmol/L, 而在激发态浓度可上升一百倍, 达到 10^{-2} mmol/L^[20]. 由于 SR 紧紧包裹于肌小节之上(图 1), 故可认为当其被激发时, 肌小节表面的 $[Ca^{2+}]$ 立刻升至 10^{-2} mmol/L. 另一方面, 肌小节的收缩与其内部的 $[Ca^{2+}]$ 关系密切, 因此当其表面的 $[Ca^{2+}]$ 突然升高后, 还要考虑此浓度扩散至肌小节内部并达到均匀所需的时间, 设此时时间为 τ_c .

对于 $[Ca^{2+}]$ 的化学扩散过程, 可按照肌小节的几何特性建模, 肌小节呈圆柱形, 如图 1 所示, 终池分布于两圈 T 管之间; 另外考虑到肌原纤维是由肌小节纵向周期性排列而成, 则只要考察两相邻 T 管之间的肌小节区域(半肌小节)即可, 如图 4(a)所示. 由于 Ca^{2+} 通道与 Ca^{2+} 泵(Ca -ATP 酶)集中分布于终池上^[21], 而 SR 在肌小节中央区域分布稀疏, 因此可取图 4(a)圆柱中各占 1/3 的两端部分作为 Ca^{2+} 的出入区域. 另一方面, 实际上在计算时不必求整个体积的浓度变化, 因为圆柱是中心对称的, 并且其壁面的边界条件与初始条件也对称, 所以在 φ 方向上无扩散流, 则可取过圆柱中心的一个截面来计算浓度变化, 如图 4(b)所示. $[Ca^{2+}]$ 的扩散方程为

$$\frac{\partial n_{Ca}}{\partial t} = \nabla^2 (D_{Ca} n_{Ca}), \quad (10)$$

式中 n_{Ca} 为 $[Ca^{2+}]$, D_{Ca} 为 Ca^{2+} 扩散系数, 计算过程与 D_K 类似, 其值约为 1.177×10^{-8} . 仿真结果显示经过至少 0.6 ms 后肌小节内的 $[Ca^{2+}]$ 基本达到均匀, 如图 5(a)所示, 即 $\tau_c = 0.6$ ms; 图 5(b)显示了相应的肌小节内 $[Ca^{2+}]$ 的分布状态, 图中黄色区域的深浅代表 $[Ca^{2+}]$ 的高低. 也就是说, 可认为肌小节内的 $[Ca^{2+}]$ 从静息值达到峰值 (10^{-2} mmol/L) 的滞后时间为 τ_c , 这是整个肌小节完全被激活所需的时间. 此外, 肌小节内 Ca^{2+}

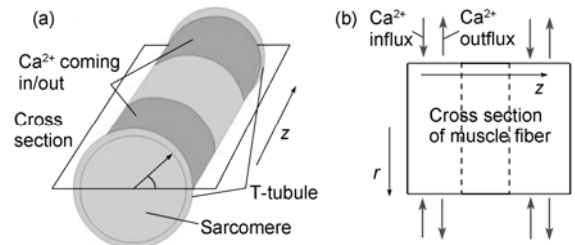


图 4 (a) $[Ca^{2+}]$ 计算区域模型; (b) $[Ca^{2+}]$ 计算截面

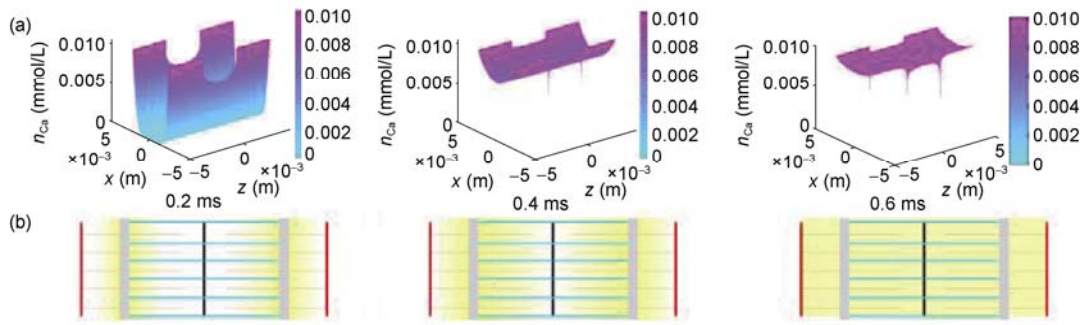


图 5 (a) 肌小节内 $[Ca^{2+}]$ 的扩散过程仿真; (b) 肌小节内 $[Ca^{2+}]$ 的扩散过程示意

峰值浓度的保持时间与动作电位的时程有关, 如前文所述, 大约为 1.8 ms.

在接下来考察 $[Ca^{2+}]$ 的下降特性时需要确定 Ca^{2+} 泵的运行效率, 由生理数据, 单个泵每秒可转运 20 个 Ca^{2+} , 而且可知约 90% 的 SR 表面被 Ca -ATP 酶占据, 因此只要知道单个泵在 SR 膜上所占的面积与图 4(a) 中圆柱壁面的 Ca^{2+} 出入区域总面积, 便可得到泵回到 SR 的总 Ca^{2+} 流为

$$I_{Ca} = \frac{0.9A_c}{A_0} \times 20, \quad (11)$$

其中 A_c 为 Ca^{2+} 出入区域面积, 由肌小节的几何特征, 其值约为 $3.1414 \times 10^{-12} \text{ m}^2$; A_0 为单个泵的面积, 其可近似为直径约 4 nm 的圆^[22], 故 $A_0 = 1.2567 \times 10^{-17} \text{ m}^2$, 得 $I_{Ca} = 7.4744 \times 10^{-18} \text{ mol/s}$. 当动作电位活动结束后, Ca^{2+} 通道关闭, 由 Ca^{2+} 泵引起的 Ca^{2+} 外流将起主导作用, 因此肌小节内的 $[Ca^{2+}]$ 可由以下连续性方程描述:

$$\frac{\partial n_{Ca}}{\partial t} = -\frac{I_{Ca}}{V_s}, \quad (12)$$

其中 V_s 代表图 4(a) 中的肌小节圆柱的体积, $V_s = 1.7671 \times 10^{-18} \text{ m}^3$. 由式(12)可知, $[Ca^{2+}]$ 从峰值回落到静息值需要大约 2.3 ms. 则由以上叙述, 可得到单个动作电位所引起的 $[Ca^{2+}]$ 变化过程如图 6 所示, 其动态特性可拟合为以下函数:

$$n_{Ca} = \frac{t}{a_3} \exp(-t/b_3) + c_3, \quad (13)$$

式中 $a_3 = 0.0422$, $b_3 = 0.00121$, $c_3 = 1 \times 10^{-4}$. 由图 6 可见, n_{Ca} 的波动形态与动作电位十分相似, 且其基本上跟随于动作电位, 但存在时间为 τ_c 的滞后.

3 动作电位对肌小节 $[Ca^{2+}]$ 的调控

动作电位爆发时存在所谓的“全或无”特性^[23],

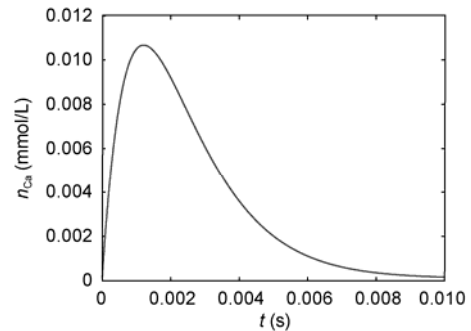
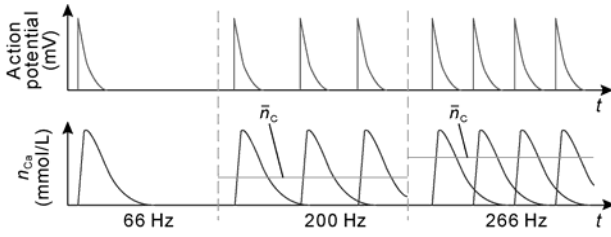


图 6 单次动作电位下肌小节内 $[Ca^{2+}]$ 的变化过程

即只要其爆发, 幅值就是一定的, 并基本不随刺激强度发生变化. 肌膜上的动作电位也是如此, 因此肌小节内的 $[Ca^{2+}]$ 只能通过其频率来调节, 故动作电位属于调频控制信号; 另一方面, $[Ca^{2+}]$ 直接与肌纤维收缩力相关, 这也是 $[Ca^{2+}]$ 等同于驱动信号的原因.

如果动作电位的频率很低(例如小于 2 Hz), 则单个肌小节会表现出“颤颤”行为, 即出现明显的节律性收缩-松弛循环. 若动作电位的频率升高至一定程度, 则单位时间内的 $[Ca^{2+}]$ 将趋于均匀化, 单个小的“颤颤”也变得紧密以至于表现得如同恒力一般, 因此某时刻的 $[Ca^{2+}]$ 实际上可由单位时间间隔内的平均 $[Ca^{2+}]$ 来表征, 这有些类似于交流电的等效功率概念, 如图 7 所示. 此外, 由于 Na^+ 通道的绝对不应期不低于 2.2 ms^[24], 因此动作电位的峰值频率不超过 450 Hz, 电位的脉冲与脉冲之间也几乎不发生交叠. 显然, 动作电位频率越高, $[Ca^{2+}]$ 的时间平均值也越高, 这种调制行为包含两层含义: 1) 在等长收缩的情形下(肌小节两端固定), 肌小节所能提供的收缩力取决于有多少分子马达做功, 因为单个分子马达所能提供的最大牵拉力是一定的; 而平均 $[Ca^{2+}]$ 越高, 就意味着有更多的分子马达被激活, 因此肌小节的收缩


 图 7 动作电位对 $[Ca^{2+}]$ 的调控

力也就越大; 2) 当负载小于肌小节所能提供的最大收缩力, 即肌小节能够产生收缩位移及速度时(例如等负载收缩), $[Ca^{2+}]$ 的时间平均值实际上决定了肌小节做功的功率, 因为 $[Ca^{2+}]$ 平均值由单位时间内肌小节被激活多少次决定(图 7)。

由(9)式及(13)式所得到的结果, 容易计算动作电位的频率与平均 $[Ca^{2+}]$ 之间的关系, 实际上只要对单个周期内相邻两次 $[Ca^{2+}]$ 的起伏作时间平均即可。图 8(a)显示了仿真结果, 图 8 中的曲线呈现出明显的 Sigmoid 函数的特征, 的确, 动作电位频率与平均 $[Ca^{2+}]$ 的函数关系可以用 Sigmoid 函数进行很好的拟合:

$$\overline{n_{Ca}} = \frac{a_4}{1 + \exp(-b_4 f)} + c_4, \quad (14)$$

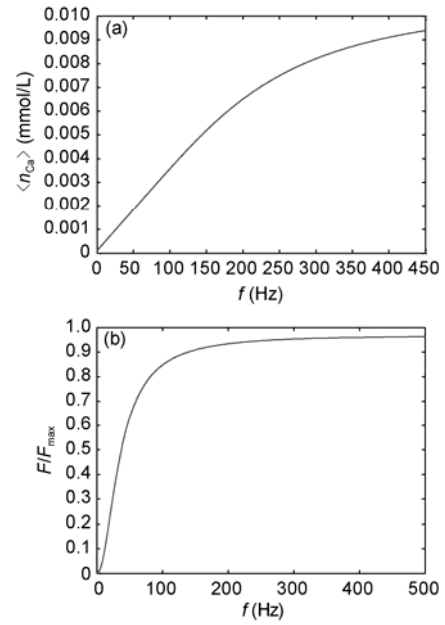
式中 f 为动作电位频率, $a_4 = 2.009 \times 10^{-2}$, $b_4 = 7.702 \times 10^{-3}$, $c_4 = -1.008 \times 10^{-2}$ 。如前所述, 平均 $[Ca^{2+}]$ 决定了肌小节等长收缩时被激活的肌球蛋白数目, 因此等长收缩力大小应与平均 $[Ca^{2+}]$ 呈正相关关系, 并且由于单个肌小节中肌球蛋白数目一定, $[Ca^{2+}]$ 应存在一个饱和值, 从此收缩力达到最大并不再变化。由前一论文的推导结果, 肌肉的主动收缩力可表达为

$$F = \beta \cdot F_{\max}, \quad (15)$$

其中 $F_{\max}$ 为肌肉的最大收缩力, 它与肌肉的横截面积、负载及[ATP]等因素有关; β 代表肌肉的激活程度^[13], 其表达为

$$\beta = \frac{[Ca^{2+}]^2}{[Ca^{2+}]^2 + K_2[Ca^{2+}] + K_1K_2}, \quad (16)$$

式中 K_1 与 K_2 分别为两个阶段的 Ca^{2+} 与肌钙蛋白的分离速率与结合速率之比, 取值分别为 $8.72 \mu M$ 与 $0.194 \mu M$ ^[25]。结合(14)式与(16)式, 不难得到肌肉收缩力与动作电位频率之间的关系, 结果如图 8(b)所示, 需要注意的是图 8(b)中纵坐标值为 $F/F_{\max}$, 即归一化的力。另一方面, 相关实验的确显示两者之间存在如图 8(b)显示的关系^[26], 仔细观察发现收缩力 F 与动作


 图 8 (a) 平均 $[Ca^{2+}]$ 与动作电位频率的关系; (b) 归一化收缩力与动作电位频率的关系

电位频率 f 之间的函数关系也可用 Sigmoid 函数来表达, 而这与前一论文的理论结果相一致, 也与本文的实验结果相一致(见实验结果)。从控制上讲,(14)式与(15)式代表了肌纤维驱动过程的两个串联环节。另外需要注意的是骨骼肌存在多种类型^[27], 由于在之前对动作电位建模时已假设 T 管上的 K^+ 通道密度很高, 因此图 8(a)所得的结果应当更接近于快缩型肌纤维, 而对慢缩型肌纤维可能会有所差别。

实际上图 8(a)所表示的动作电位频率与肌小节内平均 $[Ca^{2+}]$ 的关系是稳态状况下所得出的(即由稳定的动作电位序列激发), 而平均 $[Ca^{2+}]$ 对动作电位频率变化的瞬态响应对于理解肌纤维的调控特性同样重要(例如动作电位从 $f = 0$ 阶跃至 $f = 400$ Hz), 因为在肌肉的正常运作过程当中, 动作电位的频率是不停变化的, 因此才导致由肌小节 $[Ca^{2+}]$ 所影响的肌肉收缩功率不断变化; 由此可见, 动作电位对平均 $[Ca^{2+}]$ 的动态调控方式是变频控制。通过系统辨识, 可以得到从动作电位频率到平均 $[Ca^{2+}]$ 的传递函数为

$$G(s) = \frac{B_1 s^2 + B_2 s + B_3}{s^3 + A_1 s^2 + A_2 s + A_3}, \quad (17)$$

式中系数为 $B_1 = -0.2794$, $B_2 = -609$, $B_3 = 1.934 \times 10^5$, $A_1 = 3.887 \times 10^3$, $A_2 = 9.385 \times 10^6$, $A_3 = 8.674 \times 10^9$ 。由(17)式可见, 这是个三阶系统, 容易想到它是由一个惯性

系统及一个二阶震荡系统组成,其惯性特征来源于 Ca^{2+} 的化学扩散,而震荡特征来源于动作电位的波动特性;系统 $G(s)$ 具有一个正零点与一个负零点,以及 3 个具有负实部的极点;尽管系统本身是开环的,但对于阶跃输入及斜坡输入此系统都能稳定. 由之前的讨论,知道动物的肌肉在进行往复运动时其肌小节内的 $[\text{Ca}^{2+}]$ 将不断变化,且此时动作电位的频率也在相应地高低往复,因此还需考察(17)式所表达的系统的频域特性,系统的伯德图如图 9 所示. 需要注意的是图 9 中横坐标的物理意义是“频率的频率”,即动作电位频率的变化频率,所对应的是肌小节中 $[\text{Ca}^{2+}]$ 的变化频率,亦即肌纤维收缩功率的变化频率. 由图 9 可见,系统在低频范围内输出幅值基本保持恒定,在中频范围具有幅值最大值,而到了高频则出现幅值抑制,类似于低通滤波系统. 另一方面,前文提到动作电位本身的最高频率在 450 Hz 左右,因此其变频频率将不可能达到 450 Hz,此阈值频率在图 9 中用竖线标出,红线的位置大约在幅值最大值处,这说明在动作电位变频频率的范围内,肌纤维的收缩功率幅值随着其收缩频率的增高而逐渐增大,而其在低频范围内基本保持恒定;此外,肌纤维的工作频域并未达到高通滤波区域.

4 实验结果

为验证肌肉的等长收缩力与动作电位频率之间的稳态关系,针对人体大腿上的股直肌进行实验;股直肌位于大腿前侧,与膝关节及髋关节的肌腱相连接,因此其收缩将导致大腿抬升或小腿绷直(小腿与大腿成一直线). 实验装置如图 10 所示,实验采用本研究组自行开发的下肢外骨骼机器人进行力信号与

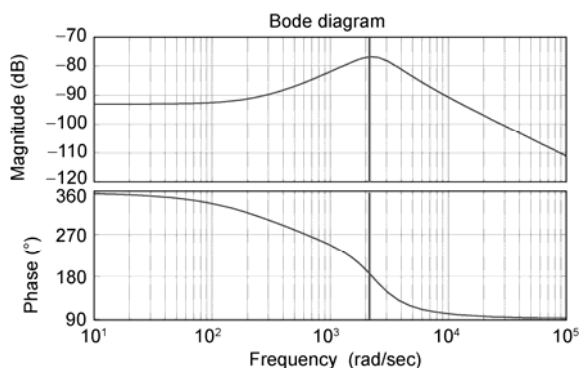


图 9 肌纤维驱动信号的频域特性

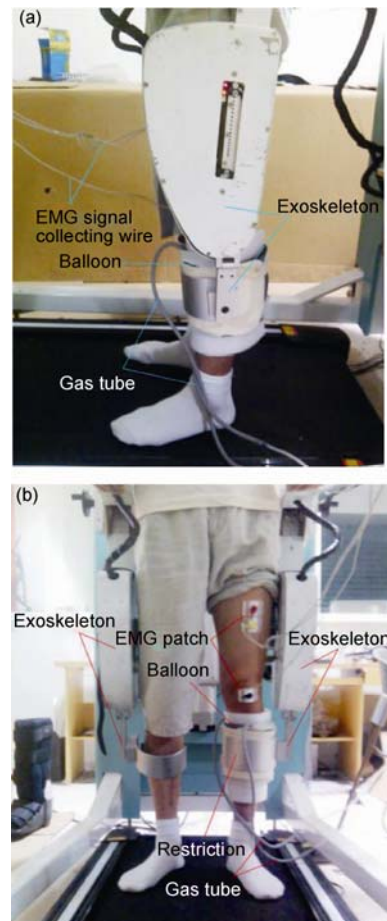


图 10 (a) 实验装置侧视图; (b) 实验装置前视图

肌电信号(EMG)的采集. EMG 信号由肌肉中大量肌纤维上的动作电位叠加而成,解析其波形可诊断肌肉病变^[28]以及辨识肌肉运动模式^[29],本实验中利用 EMG 的特征频率来判断股直肌的激活程度.

外骨骼可与实验者的大腿及小腿绑定,具有髋关节及膝关节两个自由度. 实验中将实验者的左腿与外骨骼绑定,并且髋关节角度固定,因此大腿无法活动;小腿绑有与充气管相连的气囊,并用束具将气囊与小腿一并固定. EMG 贴片置于股直肌肌腹处,以观察股直肌的激活情况;实验进行时小腿气囊首先充气,而后实验者缓慢地将小腿踢出,在此期间股直肌收缩,其强度被 EMG 信号所记录;并且由于小腿束具位置固定,因此实际上小腿几乎不会有位移变化,而在此过程中小腿压紧气囊的程度不同,故气囊压力会不断变化,此压力表征了股直肌的收缩力. 如此一来,便得到了股直肌在不同收缩状态下的 EMG 信号. EMG 信号与力信号的采样频率都是 2000 Hz,

每 400 个采样间隔进行一次数据记录, 因此每 0.2 s 记录一个数据点, 即记录周期为 $\Delta T=0.2$ s. 实验中将每个 ΔT 内的 EMG 信号进行实时傅立叶变换并提取特征频率, 特征频率的计算方法为

$$f_{ch} = \frac{\sum_{i=1}^N A_i n_i}{\sum_{i=1}^N A_i} \cdot \xi, \quad (18)$$

式中 A_i 为傅立叶半频谱上各点的幅值, n_i 为各点的位置, N 为采样点总数; 由于一块肌肉所产生的 EMG 信号频率与单根肌纤维上的动作电位频率量级有所不同, 故使用因子 ξ 作为调整参数, ξ 的作用是将实验所得的肌肉 EMG 频率范围匹配到单根肌纤维的动作电位频率范围, 以更好地验证力与动作电位频率的关系. 如前所述, 动作电位频率范围可达 450 Hz, 而本实验 EMG 频率范围在 60 Hz 左右, 故取 $\xi = 1/8$. 实验中 EMG 的特征频率 f_{ch} 也是实时输出, 同时输出的还有 ΔT 内的力平均值.

图 11(a)显示了一组气囊压力与 EMG 特征频率

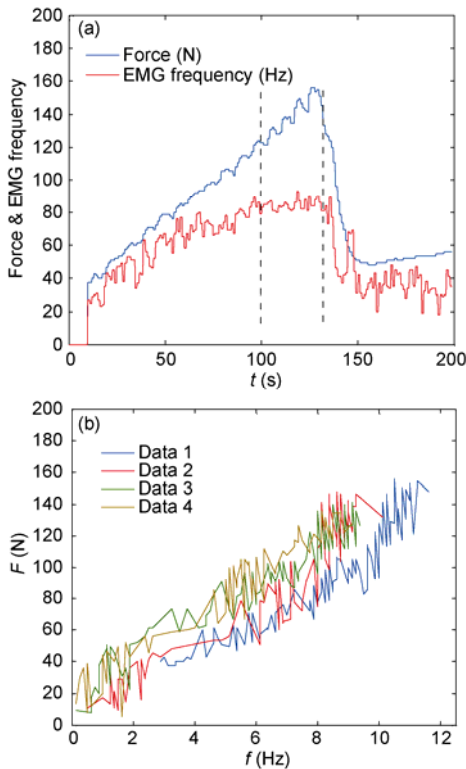


图 11 (a) 实时数据; (b) 4 组连续实验数据

的实时数据, 由图 11 可见两者基本呈跟随关系, 即 EMG 频率越高, 小腿施加给气囊的压力越大, 亦即股直肌收缩力越大. 值得注意的是当 EMG 频率上升至最高并随时间不再变化时(图中虚线之间部分), 力仍旧上升了一段时间, 这是因为在同样的激活程度下, 股直肌募集的肌纤维数目在增加. 图 11(b)显示了 4 组连续实验数据, 数据已被表达为 EMG 频率与压力的对应关系. 实验者在组与组之间休息约 4~5 min, 但是仍然明显可见越靠后的数据中同样 EMG 频率下的股直肌收缩力越大, 即反复训练后同样频率的动作电位可募集的肌纤维数目会增加, 相关运动单元的激活程度也增大, 这称作激活依赖性增强作用(activity-dependent potentiation)^[30], 随后肌肉将产生疲劳.

为了不失代表性, 将图 11(b)中第一组与第二组的数据合并拟合, 以避免疲劳作用的影响. 原始数据与拟合曲线如图 12(a)所示, 拟合过程针对数据的 Sigmoid 特性进行, 拟合曲线函数为

$$F = \frac{a_5}{1 + \exp(-b_5(f + c_5))} + d_5, \quad (19)$$

式中 F 为压力, f 为 EMG 频率, 参数 $a_5 = 1734$, $b_5 = 5.503 \times 10^{-3}$, $c_5 = -318$, $d_5 = -256.724$. 拟合后的函数曲线代表了肌肉收缩力随动作电位频率变化的实际稳态关系, 图 12(b)显示了将(19)式所表达的实验关系归一化之后与理论关系(图 8(b))的比较状况, 由图 12 可见理论结果与实验结果能够较好地符合, 并且在归一化力随动作电位频率上升的阶段曲线斜率基本一致, 但是在接近饱和阶段时理论曲线的上升滞后于实验曲线, 饱和后的实验曲线值一直大于理论曲线, 这是因为从理论推导的结果看, 力达到最大值是一个缓慢的极限过程; 另一方面, Edwards 等人^[31]及 Kesar 等人^[32]采用功能性电刺激(FES)方法对实验者的肌肉力进行了在体测量, 主要针对人体肌肉的疲劳过程进行研究, 其电刺激频率可达 100 Hz. 与之相对, 本研究中实验者主动产力, 所测量的是 EMG 频率, 虽然输入量与输出量相反, 其对应关系应当是保持的; 的确, 图 12(b)所示也显示出了这种一致性.

5 讨论

本文从肌纤维与肌小节的几何特性及生理特性出发, 构建了肌膜动作电位发生时的物理模型, 并以

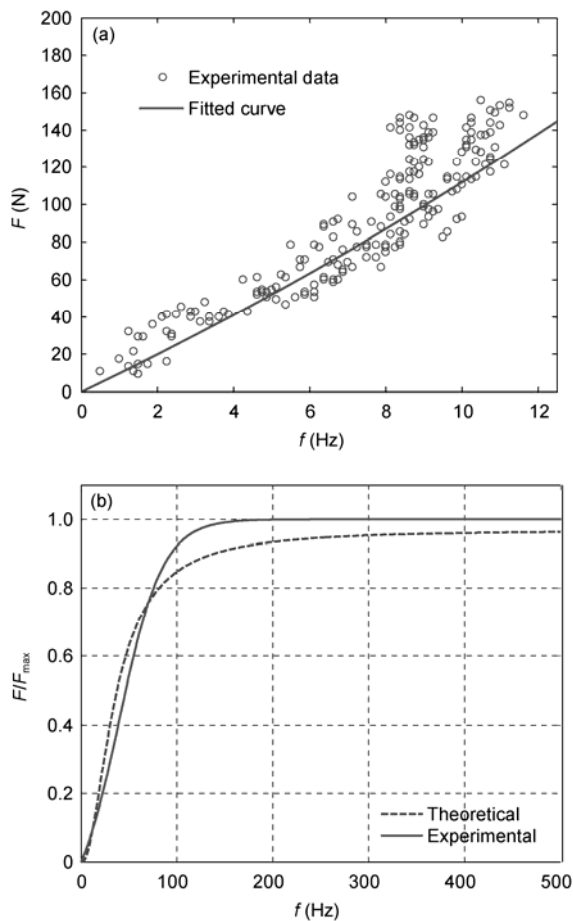


图12 (a) 实验数据的拟合; (b) 实验与理论曲线的比较

此为基础对半肌小节内的 $[Ca^{2+}]$ 变化进行了电化学建模, 最终将两者的动态特性结合起来, 给出了作为控制信号的动作电位调控作为驱动信号的 $[Ca^{2+}]$ 变化的原理. 在讨论 $[Ca^{2+}]$ 变化时, 计算了其达到峰值所需要的时间 τ_c . 这个时间可作为一个特征常数并在控制学上具有特殊意义, 因为它代表了控制信号发出之后直到肌纤维开始收缩所需要的最短时间, 这是由肌纤维的物理特性所决定的, 有些类似于机电控制学中的机电时间常数; 由于 τ_c 是骨骼肌的时间常数, 且动作电位也是电信号, 因此为了不失代表性, 可将其命名为“机电时间常数”. 在阐述动作电位如何调控 $[Ca^{2+}]$ 时, 给出了其调控方式的两层含义, 分别囊括了肌肉工作时的两种工况, 这对运动意图的理解显得非常关键. 由这两层含义可见, 虽然运动意图的最终体现是肌肉的收缩力(收缩速度与位移也是由收

缩力控制), 然而对运动意图的理解并不能通过测量肌肉的收缩力来量化, 因为相同的动作电位作用于不同的运动单位(或肌群)时, 由于运动单位所包含的肌小节数目/肌球蛋白数目不尽相同, 所产生的收缩力与做功功率会有很大差别. 由前文所述, 动作电位的频率实际上体现了“意图强度”, 而肌肉产生的收缩力则体现了“作用强度”, 所以不同肌肉要产生相同作用强度, 所要施加的意图强度应当是不同的, 并且也因人而异. 另一方面, 本文针对动作电位频率与肌肉收缩力的稳态关系进行了理论推导, 并进一步设计了相关实验作为理论结果的验证, 结果显示实验与理论能够较好地符合.

由驱动信号调控方式的含义, 本文进一步阐述了动作电位对肌小节内平均 $[Ca^{2+}]$ 的动态调控方式——变频调控, 导出了 $[Ca^{2+}]$ 对动作电位频率变化的动态响应特性, 并给出了传递函数. 此外, 通过对所得系统进行频域分析, 发现在肌纤维的收缩频率范围内, 其输出功率随着收缩频率的提高, 将从基本恒定向逐渐增大转变; 也就是说, 对于某种骨骼肌结构来说, 存在使其输出功率最大的收缩频率, 而此频率由动作电位的最高频率与肌纤维收缩的频域特性共同决定; 另外还存在肌纤维收缩频率的上限, 此上限频率由动作电位的最高频率单方面决定.

若将机电时间常数的概念与肌小节的调控方式结合起来, 则不难发现, 本文的理论结果虽然是以最靠近肌膜的肌小节为对象导出, 而实际上是给出了骨骼肌控制环节中最开始的前向传递函数. 以此为基础, 通过肌纤维上的动作电位分布及其内部的肌小节分布, 可得到肌纤维的控制学特性; 由于单块肌肉是由众多肌纤维串并联组成, 进而又能够得到整块肌肉的控制模型, 完成骨骼肌收缩模型从微观到宏观的统一. 然而有一点需要注意, 本文阐述了肌纤维中肌小节收缩的调控原理及特性, 但并不意味着其中的控制学模型已经全部形成, 因为真实的肌肉运作过程是个闭环系统(通过生物神经网络进行反馈), 而本文只讨论了肌纤维驱动的开环特性, 因此在之后的工作中还需要以此原理为基础, 进一步研究骨骼肌的运动信息反馈特性, 给出骨骼肌收缩控制的完整传递函数.

参考文献

- Hill A V. The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. *Proc R Soc Lond B*, 1938, 126: 136–195
- Gordon A M, Huxley A F, Julian F J. The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *J Physiol*, 1966, 184: 170–192
- 艾保全, 王先菊, 刘国涛, 等. 肌肉运动的动力学模型. *中山大学学报(自然科学版)*, 2001, 40(6): 27–30
- Telley I A, Denoth J, Stussi E, et al. Half-sarcomere dynamics in myofibrils during activation and relaxation studied by tracking fluorescent markers. *Biophys J*, 2006, 90: 514–530
- 殷跃红, 郭朝. 分子马达集体运行机制及肌小节动力学模型. *中国科学: 技术科学*, 2011, 41(11): 1533–1540
- Huxley H E. The mechanism of muscular contraction. *Science*, 1969, 164: 1356–1366
- Huxley A F. Muscular contraction. *J Physiol*, 1974, 243: 1–43
- Huxley A F, Simmons R M. Proposed mechanism of force generation in striated muscle. *Nature*, 1971, 233: 533–538
- Spudich J A. How molecular motors work. *Nature*, 1994, 372: 515–518
- Anthony L F, Erickson H P, Rousseau E, et al. Purification and reconstitution of the calcium release channel from skeletal muscle. *Nature*, 1988, 331: 315–319
- Cannel M B, Allen D G. Model of calcium movements during activation in the sarcomere of frog skeletal muscle. *Biophys J*, 1984, 45: 913–925
- Stuyvers B D, McCulloch A D, Guo J Q, et al. Effect of simulation rate, sarcomere length and Ca^{2+} on force generation by mouse cardiac muscle. *J Physiol*, 2002, 544, 3: 817–830
- 郭朝, 殷跃红. 基于分子马达集体运行机制的骨骼肌收缩动力学模型——基于分子马达运行机制的骨骼肌生物力学原理(I). *中国科学: 技术科学*, 2012, 42(6): 672–679
- Jayasinghe I D, Cannell M B, Soeller C. Organization of ryanodine receptors, transverse tubules, and sodium-calcium exchanger in rat myocytes. *Biophys J*, 2009, 97(10): 2664–2673
- Tanabe T, Takeshima H, Mikami A, et al. Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle. *Nature*, 1987, 328: 313–318
- Takeshima H, Nishimura S, Matsumoto T, et al. Primary structure and expression from complementary DNA of skeletal muscle ryanodine receptor. *Nature*, 1989, 339: 439–445
- Toyoshima C, Nakasako M, Nomura H, et al. Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 Å resolution. *Nature*, 2000, 405: 647–655
- Fortune E, Lowery M M. Effect of extracellular potassium accumulation on muscle fiber conduction velocity: A simulation study. *Ann Biomed Eng*, 2009, 37(10): 2105–2117
- Piitulainen H, Botter A, Merletti R, et al. Muscle fiber conduction velocity is more affected after eccentric than concentric exercise. *Euro J App Physiol*, 2010, 111(2): 261–273
- Maxwell M H, Kleeman C R. *Clinical Disorders of Fluid and Electrolyte Metabolism*. New York: McGraw-Hill Companies, 1968. 28
- Endo M. Calcium-induced calcium release in skeletal muscle. *Physiol Rev*, 2009, 89: 1153–1176
- Escobar A L, Monck J R, Fernandez J M, et al. Localization of the site of Ca^{2+} release at the level of a single sarcomere in skeletal muscle fibres. *Nature*, 1994, 367: 739–741
- Dux L, Martonosi A. Two-dimensional arrays of proteins in sarcoplasmic reticulum and purified Ca^{2+} -ATPase vesicles treated with vanadate. *J Biol Chem*, 1983, 258: 2599–2603
- Levitani I B, Kaczmarek L K. *The Neuron Cell and Molecular Biology*. 2nd ed. New York: Oxford University Press Inc, 1997. 37–39
- Baylor S M, Hollingworth S. Calcium indicators and calcium signalling in skeletal muscle fibres during excitation-contraction coupling. *Prog Biophys Mol Biol*, 2011, 105: 162–179
- Kreutziger K L, Piroddi N, Scellini B, et al. Thin filament Ca^{2+} binding properties and regulatory unit interactions alter kinetics of tension development and relaxation in rabbit skeletal muscle. *J Physiol*, 2008, 586, 15: 3683–3700
- MacIntosh B R, Gardiner P F, McComas A J. 主译: 余志斌, 李全, 徐彭涛, 等. 骨骼肌结构与功能. 西安: 第四军医大学出版社, 2010. 4–5
- 陈芷若. 肌电图(EMG)临床应用. *现代电生理学杂志*, 2005, 12(1): 42–46
- 王飞, 罗志增. 基于功率谱的表面 EMG 信号运动模式识别. *杭州电子科技大学学报*, 2005, 25(2): 37–40
- Pasquet B, Carpentier A, Duchateau J, et al. Muscle fatigue during concentric and eccentric contractions. *Muscle Nerve*, 2000, 23: 1727–1735
- Edwards R H T, Hill D K, Jones D A, et al. Fatigue of long duration in human skeletal muscle after exercise. *J Physiol*, 1977, 272: 769–778
- Kesar T, Chou L W, Binder-Macleod S A. Effects of stimulation frequency versus pulse duration modulation on muscle fatigue. *J Electromyogr Kinesiol*, 2008, 18(4): 662–671