

На правах рукописи

Викулова Наталия Алексеевна

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ
СОПРЯЖЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И МЕХАНИЧЕСКИХ
ЯВЛЕНИЙ В КЛЕТКАХ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

03.00.02-биофизика

Автореферат



**диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук**

Москва 2005

Работа выполнена в Институте иммунологии и физиологии УрО РАН,
г. Екатеринбург

- Научный руководитель член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор,
Мархасин Владимир Семенович,
- Научный консультант кандидат физико-математических наук,
доцент Соловьева Ольга Эдуардовна
- Официальные оппоненты: член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор,
Чайлахян Левон Михайлович
- доктор физико-математических наук,
Цатурян Андрей Кимович
- Ведущая организация: Институт экспериментальной кардиологии
Кардиологического Научно-производственного комплекса МЗ РФ

Защита состоится "2" июня 2005 г. в 15.30 часов на заседании
Диссертационного Совета Д.501.001.96 при Московском государственном
университете имени М.В. Ломоносова по адресу:

119992, Москва, Воробьевы горы, МГУ, Биологический факультет,
кафедра биофизики.

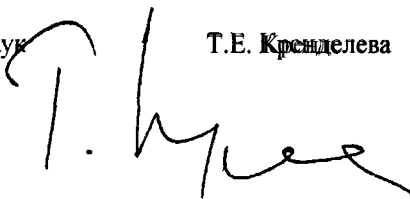
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Биологического
факультета МГУ.

Автореферат разослан "29" апреля 2005 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета Д.501.001.96,

доктор биологических наук

Т.Е. Кресделева



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Сердечно-сосудистая патология по-прежнему занимает первое место среди всех хронических заболеваний человека, как по распространенности, так и в качестве причины смерти. Поэтому усилия клиницистов, физиологов, биофизиков направлены на тщательный анализ явлений, связанных с нормальным и патологическим функционированием сердца. В частности, в их исследованиях показана тесная связь между патологическими нарушениями сократительной функции миокарда и возникновением нарушений ритма, то есть между механическими и электрическими явлениями в сердце.

Сердце - чрезвычайно сложный объект. Насосная функция сердца обеспечивается согласованной работой множества кардиомиоцитов - элементарных сократительных единиц миокарда. Совокупность процессов, контролирующих электрические и механические явления в кардиомиоцитах, также очень сложна. Эти процессы тесно взаимосвязаны друг с другом петлями прямых и обратных связей. Кроме того, в различных регионах камер сердца кардиомиоциты значительно различаются, то есть миокардиальная ткань существенно неоднородна. Анализ процессов, происходящих в клетках сердца, а также изучение вклада неоднородности в обеспечение нормальной деятельности сердца крайне затруднительны.

В настоящее время сердце подвергается тщательному анализу на разных уровнях его организации. Функции камер сердца и отдельных сегментов миокарда исследуются при помощи ультразвукового исследования, доплеровского сканирования, магнитно-резонансной томографии. Для изучения отдельных сердечных клеток, субклеточных структур, макромолекул и связанных с ними процессов используется целый комплекс биофизических методов. Однако не менее важным является понимание того, каковы механизмы интеграции этих процессов в единое целое. Уникальную роль в понимании такой интеграции играет математическое моделирование.

Для исследования механических и биохимических явлений в клетках сердечной мышцы в Институте иммунологии и физиологии (ИИФ) УрО РАН под руководством члена-корреспондента РАН В.С. Мархасина разработана математическая модель, которая описывает широкий класс механических явлений в сердечной мышце. В частности, эта модель включает математическое описание обратных свя-

зей между механическими условиями сокращения и кинетикой внутриклеточного кальция, которое основано на описании кооперативных механизмов связывания кальция с регуляторным белком тропонином С. Однако эта модель не включала описания электрических явлений в кардиомиоците, поэтому для исследования механизмов электро-механического и механоэлектрического сопряжения в клетках рабочего миокарда потребовалось объединение уже существующей модели механических явлений в сердечной мышце с моделью, описывающей кинетику мембранных ионных токов и генерацию потенциала действия в кардиомиоцитах. В рамках сотрудничества с лабораторией физиологии Оксфордского университета для построения объединенной математической модели сопряжения электрических и механических явлений в кардиомиоцитах была использована модель электрогенеза в кардиомиоцитах желудочка, разработанная группой профессора Д. Нобла (Noble'98). Объединенная модель была использована нами для анализа электромеханического и механоэлектрического сопряжения в клетках миокарда. Эта же модель стала основой для выяснения электромеханических явлений в неоднородном миокарде.

Для исследования неоднородности миокарда в ИИФ УрО РАН разработан метод мышечных дуплетов - простейших моделей неоднородности. В рамках этого подхода исследуется влияние механического взаимодействия двух сердечных мышц с различными механическими свойствами на поведение дуплета и его элементов. Экспериментальные и теоретические работы с использованием мышечных дуплетов позволили обнаружить ряд *биомеханических* феноменов, возникающих вследствие неоднородности миокардиальной системы, и описать их возможные механизмы. Изменение *электрических* характеристик взаимодействующих элементов миокардиальной системы, неоднородной по механическим свойствам, до сих пор не изучалось. Построение виртуальных дуплетов, состоящих из двух моделей сердечных мышц, кинематически связанных (параллельно или последовательно), и исследование с их помощью внутриклеточных процессов во взаимодействующих мышцах позволяет предсказывать возможные эффекты, связанные с влиянием механической неоднородности миокарда на процессы его возбуждения в нормальных и патологических условиях.

Итак, ввиду сложности анализа электромеханического и механоэлектрического сопряжения в сердечной мышце, особенно с учетом ее

неоднородности, разработка математических моделей электромеханических явлений в кардиомиоцитах представляется весьма актуальной.

Цели исследования. 1) Построение математической модели электрических и биомеханических явлений в клетках сердечной мышцы и исследование при ее помощи механизмов электромеханического и механоэлектрического сопряжения в кардиомиоцитах. 2) Исследование влияния механической неоднородности миокарда на механические и электрические явления в нем при помощи математической модели в рамках метода мышечных дуплетов.

При этом были поставлены и решены следующие **задачи**:

К цели 1:

1. объединение математической модели механических явлений в сердечной мышце и модели электрических явлений в кардиомиоцитах Noble'98;
2. разработка программного обеспечения для проведения численных экспериментов;
3. идентификация параметров объединенной модели электромеханического сопряжения для адекватного описания явлений в кардиомиоцитах;
4. разработка методов анализа возможных внутриклеточных механизмов наблюдаемых явлений и проведение такого анализа на основе численных экспериментов;

к цели 2:

5. построение виртуального неоднородного дуплета с использованием двух систем уравнений математической модели электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах с учетом кинематических связей между элементами дуплета;
6. анализ в рамках виртуального дуплета возможных внутриклеточных механизмов, лежащих в основе эффектов взаимодействия между элементами дуплета.

Методы исследования.

1) Разработанная объединенная математическая модель представляет собой систему из 28 обыкновенных дифференциальных нелинейных уравнений, для численного интегрирования которой использовались методы Эйлера и Рунге-Кутты.

2) Для анализа внутриклеточных механизмов механоэлектрической обратной связи разработан метод интегралов от разности мембранных токов, позволяющий оценивать вклад отдельных токов в общее изменение потенциала действия после изменения условий сокращения.

3) Для построения простейшей модели электромеханической неоднородности миокарда использовался метод виртуальных мышечных дуэтов, разработанный в ИИФ УрО РАН.

4) Программное обеспечение для численного интегрирования моделей разработано в среде программирования Borland Delphi 6.0 в операционной среде Windows.

Научная новизна:

1. Впервые разработана математическая модель, наиболее полно описывающая наблюдаемые в эксперименте механохимические и электрические явления в клетках сердечной мышцы.
2. Впервые разработана математическая модель неоднородной миокардиальной ткани, позволяющая изучать электрические явления в неоднородных по механическим свойствам элементах при их взаимодействии.
3. В рамках полученных моделей описаны явления электромеханического и механоэлектрического сопряжения, возникающие, как в одиночных клетках, так и во взаимодействующих элементах неоднородной миокардиальной системы, а также предсказаны возможные механизмы, лежащие в основе этих явлений.

Практическая ценность. Полученные результаты позволяют более глубоко понять связь между механическими и электрическими явлениями в миокарде. В частности, они объясняют, почему возросшая механическая неоднородность миокарда может приводить к нарушениям ритма. Кроме того, они объясняют нарушения электрической функции миокарда, наблюдаемые, например, при ушибах сердца (Commotio Cordis) или коллапсе.

Публикации. По теме работы имеется 14 публикаций, в том числе статьи в журналах International Journal of Bifurcation and Chaos, Journal of Physiology, Lecture Notes in Computer Science, Russian Journal of Numerical Analysis and Mathematical Modelling, в "Российском физиологическом журнале им. И.М. Сеченова" и "Вестнике Уральской медицинской академической науки".

Апробация работы. Основные положения работы и научные результаты докладывались на 7-ми конференциях, в том числе на XVIII и XIX Съездах физиологического общества им. И.П. Павлова (Казань, 2001, Екатеринбург, 2004), ежегодном съезде Королевского физиологического общества (Лидс, Великобритания, 2002), на 3 международном семинаре по механоэлектрической обратной связи в сердце и аритмиям (Оксфорд, Великобритания, 2002), II и III Уральских научно-практических конференциях (Екатеринбург, 2000, 2001), Международном симпозиуме "Биологическая подвижность" (Пушино, 2004), Всероссийской школе-конференции по физиологии кровообращения (факультет фундаментальной медицины МГУ, Москва, 2004), а также на научных семинарах в Уральском государственном университете (Екатеринбург), Институте математики и механики УрО РАН (Екатеринбург), Институте механики МГУ (Москва).

Исследования, проведенные в рамках диссертационной работы, поддержаны грантами РФФИ №03-04-48260-а (2003-2005), №00-04-48323-а (2000-2002), 02-04-58881-3 (2002), грантами поддержки молодых ученых УрО РАН (2002, 2003, 2004, 2005), грантами the Wellcome Trust CRIG #074152 (2004-2007), #061115 (2000-2003).

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, библиографического списка использованной литературы из 110 наименований. Объем диссертации - 174 страницы, 43 рисунка и 4 таблицы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы исследований, сформулирована цель диссертационной работы и пути ее достижения, отмечена новизна и практическое значение работы.

Описываются явления электромеханического сопряжения в сердечной ткани. Приводится обзор имеющихся экспериментальных и клинических данных, указывающих на существование зависимости между механическими условиями сокращения миокардиальной ткани и формированием потенциала действия в кардиомиоците. На основе экспериментальных данных высказываются предположения о механизмах механоэлектрической обратной связи в сердце. А именно, в качестве основных механизмов, обеспечивающих передачу механического воздействия на потенциал действия, предполагается: 1) механозависи-

мость кинетики внутриклеточного кальция и 2) ток через механочувствительные каналы. Приводится обзор имеющихся экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что кардиомиоциты различных участков миокардиальной ткани неодинаковы по своим свойствам. Кратко охарактеризованы существующие математические модели, описывающие внутриклеточные явления в кардиомиоцитах.

В первой главе детально описана математическая модель, которая была построена в ходе выполнения диссертационной работы, а также методы анализа внутриклеточных механизмов механоэлектрического сопряжения. Математическая модель состоит из трех крупных блоков: электрического, механохимического блока и блока рециркуляции кальция. *Электрический* блок модели, описывающий генерацию потенциала действия (ПД), полностью заимствован из модели Noble'98. Изменение мембранного потенциала происходит за счет специфического перемещения зарядов через мембрану ионными токами. Скорость изменения потенциала на мембране E_m записывается следующим образом:

$$\frac{dE_m}{dt} = -\frac{I}{C_m} \cdot \sum_k i_k(t), \quad (1)$$

где C_m - емкость мембраны, $\sum_k i_k(t)$ - сумма всех ионных токов через мембрану.

В модели описывается перенос ионов Ca^{2+} , Na^+ , K^+ через ионные каналы, ионные насосы, расположенные на мембране и ионные обменники, а также изменение концентрации ионов Ca^{2+} , Na^+ , K^+ во внутриклеточном и внеклеточном пространствах. Приводится краткое описание вклада каждого тока в процесс генерации ПД, а также математические формулировки для токов через каналы, которые основаны на уравнениях Ходжкина-Хаксли. Кроме того, дано математическое описание тока через неселективные механочувствительные каналы i_{MSC} -

$$i_{MSC} = g_{MSC}(\Delta L) \cdot (E_m - E_{MSC}), \quad (2)$$

где E_{MSC} - значение потенциала реверсии для механочувствительных каналов; g_{MSC} - проводимость механочувствительных каналов клетки, зависящая от отклонения длины мышцы ΔL от некоторой фиксированной длины.

Для описания механических характеристик мышечного волокна сердца используется классическая трехэлементная модель Хилла. Сердечная мышца представлена в виде сократительного элемента (саркомера), последовательного и параллельного упругих элементов. Модель может воспроизводить различные режимы сокращения сердечной мышцы в сердечном цикле (изометрический, изотонический, ауksотонический). Напряжение, генерируемое саркомером, пропорционально среднему напряжению, генерируемому поперечным мостиком в зависимости от скорости деформации саркомера, и доле силогенерирующих поперечных мостиков N в зоне перекрытия толстых (миозиновых) и тонких (актиновых) нитей саркомера. В свою очередь, число N определяется долей активных мест на актиновой нити в зоне перекрытия толстых и тонких нитей и вероятностью для поперечного мостика присоединиться к активному мостику. В модели доля активных мест кооперативно зависит от концентрации кальций-тропониновых комплексов $\{[CaTrop]\}$ и длины зоны перекрытия, а вероятность прикрепления от длины саркомера и скорости его укорочения.

Скорость изменения $[CaTrop]$ определяется в модели следующим кинетическим уравнением:

$$\frac{d[CaTrop]}{dt} = \alpha_{Trop} \cdot (Trop_{tot} - [CaTrop]) \cdot [Ca^{2+}]_i - \beta_{Trop}(N, [CaTrop]) \cdot [CaTrop], \quad (3)$$

где $[Ca^{2+}]_i$ - концентрация свободного внутриклеточного кальция, α_{Trop} - константа скорости образования, а β_{Trop} - константа скорости распада комплексов. В модели учтены экспериментальные данные, указывающие на то, что сродство регуляторного белка тропонина С к кальцию зависит от механических условий сокращения (длины саркомера и скорости его укорочения) и определяется кооперативными механизмами. В частности, константа скорости распада кальций-тропониновых комплексов уменьшается при увеличении концентрации силогенерирующих поперечных мостиков в окрестности кальций-тропонинового комплекса, а также при увеличении $[CaTrop]$ вблизи данного комплекса.

Таким образом, кооперативные механизмы образования кальций-тропониновых комплексов лежат в основе обратной связи между механическими условиями сокращения сердечной мышцы и кинетикой внутриклеточного кальция.

Блок рециркуляции кальция построенной математической модели представляет собой более полное описание по отношению к объединяемым моделям, модифицированное для согласования с экспериментальными данными. В нем описывается изменение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), включая $[Ca^{2+}]_{DS}$ - изменение концентрации в диадическом пространстве между мембранами Т-тубул и терминальными цистернами саркоплазматического ретикулума (СР), связывание Ca^{2+} внутриклеточными буферами ($[CaTrop]$, $[B_1]$, $[B_2]$) и обмен с СР (поток высвобождаемого кальция - $F_{rel}i$, поток поглощаемого кальция - F_{up}):

$$\frac{d[Ca^{2+}]_i}{dt} = -\frac{1}{2V_i F} \cdot (i_{CaLCa,cyt} + i_{b,Ca} - 2 \cdot i_{NaCa,cyt}) + F_{rel} \cdot \frac{V_{rel}}{V_i} - F_{up} - \frac{d[CaTrop]}{dt} - \frac{d[B_1]}{dt} - \frac{d[B_2]}{dt} + [Ca^{2+}]_{DS} \cdot \frac{V_{DS}}{V_i} \cdot k_{decay}, \quad (4)$$

где V_i , V_{rel} , V_{DS} - объем внутриклеточного пространства, терминальных цистерн СР, диадического пространства, F - константа Фарадея. $i_{CaLCa,cyt}$ - ток кальция через медленные каналы L-типа, $i_{b,Ca}$ - фоновый кальциевый ток через мембрану, $i_{NaCa,cyt}$ - Na^+ - Ca^{2+} обменный ток, k_{decay} - константа скорости диффузии кальция из диадического пространства.

В процессе объединения электрофизиологической модели Нобла и механической модели проводилась корректировка начальных данных и коэффициентов объединенной модели, для того чтобы данные, полученные при помощи модели, соответствовали экспериментальным.

Таким образом, в рамках диссертационной работы построена математическая модель электромеханического сопряжения в клетках рабочего миокарда, которая представляет собой систему из 28 обыкновенных дифференциальных уравнений.

Для анализа внутриклеточных механизмов электромеханического и механоэлектрического сопряжения в кардиомиоцитах при помощи математической модели использовался ряд методов. В частности, разработан метод сравнения интегралов от разности мембранных токов, который основан на вычислении в текущем времени интегралов от разности индивидуальных токов до ($i_{k,control}$) и после ($i_{k,test}$) воздействия:

$$\Delta i_k(t) = i_{k,test}(t) - i_{k,control}(t). \quad (5)$$

Знак тока разности указывает, являются ли изменения тока реполяризующими ($\Delta i_k > 0$) или депполяризующими ($\Delta i_k < 0$) по отношению к контрольному ПД. Изменение каждого тока в результате воздействия на кардиомиоцит вносит вклад в динамическое изменение суммы токов, определяющее изменение мембранного потенциала.

Изменение мембранного потенциала $\Delta E(t)$ в ответ на воздействие определяется формулой:

$$\Delta E(t) = E_{test}(t) - E_{control}(t) = \Delta E(t_0) + \left(-\frac{1}{C}\right) \sum_k \Delta Q_k(t), \quad (6)$$

где $\Delta Q_k(t)$ - дополнительный заряд, переносимый током разности $\Delta i_k(t)$. Для $\Delta Q_k(t)$ очевидно справедливо соотношение:

$$\Delta Q_k(t) = \int_{t_0}^t \Delta i_k(\tau) d\tau. \quad (7)$$

Для оценки вклада дополнительного заряда, переносимого током разности $\Delta i_k(t)$, в изменение мембранного потенциала, вычисляется соответствующее этому току разности приращение потенциала $\Delta E_k(t)$:

$$\Delta E_k(t) = -\frac{1}{C} \cdot \Delta Q_k(t). \quad (8)$$

Сравнение временного хода $\Delta E_k(t)$ позволяет оценить вклад каждого тока разности в изменение ПД после воздействия на сердечную мышцу.

Далее в первой главе описывается построение виртуального мышечного дуплета, элементами которого являются математические модели электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах (виртуальные мышцы, ВМ). Для упрощения моделирования было предположено, что между мышцами дуплета происходит только механическое взаимодействие. Распространение волны возбуждения имитировалось задержками времени стимуляции элементов друг относительно друга Δt_{cmv} . Для описания электрической неоднородности элементов в дуплете, введено понятие дисперсии реполяризации (ДР), которое определяется как разность между моментами завершения реполяризации потенциалов действия в виртуальных мышцах. Дисперсия реполяризации имеет свой аналог в клинической физиологии сердца и обычно оценивается по электрокардиограмме. Появление региональных различий в реполяризации миокардиальной ткани может указывать на увеличение вероятности возникновения аритмий.

Во второй главе приводятся результаты численных экспериментов на модели электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах в случае одиночной сердечной клетки. В полном соответствии с экспериментальными данными воспроизведены основные механохимические и электрические явления в клетке сердечной мышцы, а также явления, связанные с рециркуляцией кальция, при разных условиях сокращения (изометрических и изотонических). В частности, воспроизведен временной ход изменения длины сердечной клетки и генерация ею напряжения, особенности кинетики саркомеров, изменение внутриклеточной концентрации кальция и кальций-тропониновых комплексов, временной ход ионных токов в течение потенциала действия. Показано, что длительность ПД (ДПД) в значительной степени зависит от механических условий сокращения. Например, ДПД увеличивается при уменьшении постнагрузки в изотонических сокращениях. В изометрических сокращениях ДПД зависит от начальной длины ВМ. На рисунке 1 представлены результаты численных экспериментов для изометрических сокращений ВМ при контрольной длине L_c и при растяжении мышцы, то есть при большей начальной длине L_{st} (Рис. 1А, L).

Указанные выше численные эксперименты выполнялись на математической модели, в которой проводимость механочувствительных каналов была нулевой. При помощи метода сравнения интегралов от разности токов был проведен анализ длинозависимых изменений во временном ходе потенциала действия. Показано, что отрицательная разность между мембранным потенциалом после растяжения и в контрольном сокращении $\Delta E = E_{st} - E_c$ складывается в основном из отрицательных изменений потенциала действия за счет $Na^+ - Ca^{2+}$ обменного тока (Рис. 1Б, i_{NaCa}) и внутрь направленного выпрямляющего K^+ тока (Рис. 1 Б, i_{Kj}). В условиях растяжения мышцы эти токи обеспечивают дополнительный отток положительных зарядов из клетки по сравнению с контрольным сокращением, что приводит к более раннему завершению ПД (Рис. 1А, E). Основной причиной механически обусловленного изменения указанных токов является, с одной стороны, механозависимость кинетики внутриклеточного кальция, с другой стороны, кальций-зависимость $Na^+ - Ca^{2+}$ обменного тока. Последовательность событий, определяющих влияние длины мышцы на ПД, выглядит следующим образом. Вследствие увеличения длины мышцы (а, следовательно, и длины саркомера, Рис. 1А, SL) уменьшается рас-

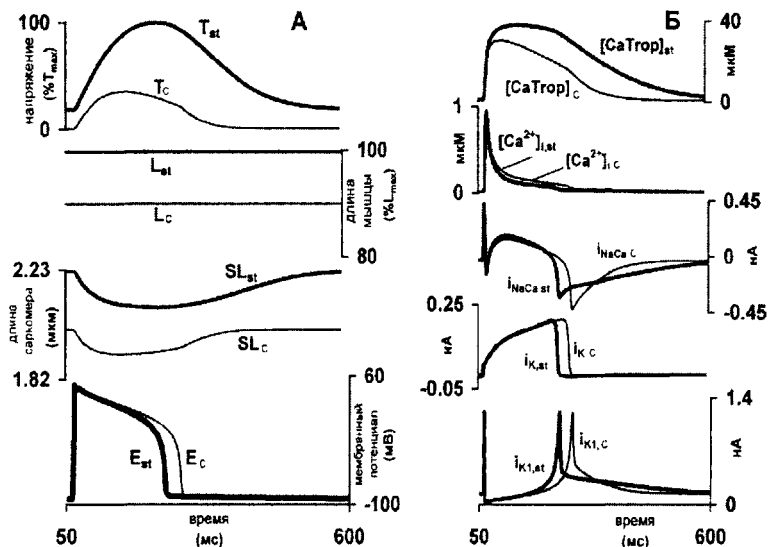


Рис. 1.

стояние между тонкими (актиновыми) и толстыми (миозиновыми) нитями саркомера, что приводит к увеличению вероятности присоединения поперечных мостиков к активным местам на тонкой нити. Вместе с тем увеличивается зона перекрытия толстых и тонких нитей, а, следовательно, увеличивается доля замкнутых поперечных мостиков. В силу механизмов кооперативности, увеличение концентрации силогенирующих поперечных мостиков, приводит к увеличению сродства тропонина С к Са. Далее, чем выше $[CaTrop]$, тем меньше скорость распада комплексов. Таким образом, при увеличении длины сократительного элемента в изометрических сокращениях увеличивается амплитуда и замедляется спад $[CaTrop]$ (Рис. 1.Б, $[CaTrop]$), тем самым, быстрее снижается уровень $[Ca^{2+}]$, (Рис. 1.Б, $[Ca^{2+}]$). Более быстрый спад $[Ca^{2+}]$, приводит к росту кальций-зависимого реполяризирующего тока i_{NaCa} в фазу плато ПД (Рис. 1.Б, W_0), что приводит к ускорению реполяризации в начальную фазу плато ПД, что, в свою очередь, вызывает более раннюю активацию реполяризирующих калиевых токов, завершающих реполяризацию ПД (Рис. 1.Б, i_{K1} , i_{K2}). В результате, при растяжении мышцы ПД завершается ранее, чем при контрольной длине.

Также в модели с нулевой проводимостью механочувствительных каналов проведены эксперименты, в которых изучалось, как различные характеристики деформаций (характер деформации (укорочение или растяжение), ее скорость, время нанесения, длительность и амплитуда) влияют на временной ход ПД. Показано, что при увеличении скорости укорочения и его амплитуды длительность ПД увеличивается. Наиболее выраженные изменения в ПД возникают при деформациях близких к середине плато ПД. Все полученные результаты согласуются с экспериментальными данными, полученными на кардиомиоцитах морской свинки, полосках миокарда лягушки, папиллярных мышцах кошки и хорька, левом желудочке кролика. Наблюдаемые в эксперименте и в модели изменения ПД также могут быть объяснены механочувствительностью кинетики внутриклеточного Ca^{2+} .

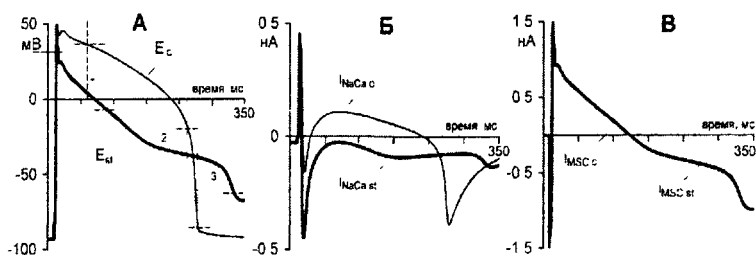


Рис. 2

Введение в модель механочувствительных каналов с ненулевой проводимостью позволило дополнительно воспроизвести ряд экспериментальных наблюдений, связанных с влиянием деформаций сердечной мышцы на форму и длительность ПД в ее клетках. В частности, было воспроизведено явление кроссовера (пересечения временного хода) реполяризации в контрольном сокращении (Рис. 2.А, E_m) и после растяжения мышцы (Рис. 2.А, E_m) при достаточно больших значениях g_{MSC} (см. уравнение (2)). После растяжения ВМ наблюдается ускорение реполяризации в начальную фазу плато (Рис. 2.А, E_m) и замедление реполяризации к концу ПД (Рис. 2.А, E_m), вплоть до prolongации ПД по сравнению с контрольным (Рис. 2.А, E_m). Анализ результата при помощи метода интегралов от разности токов показал, что растяжение ВМ активирует ток через механочувствительные каналы (Рис. 2.В, $i_{MSC(st)}$) о проявляется в значительном потоке положительных зарядов из клетки (ΔQ_{MSC} , см. уравнение (6)), который являет-

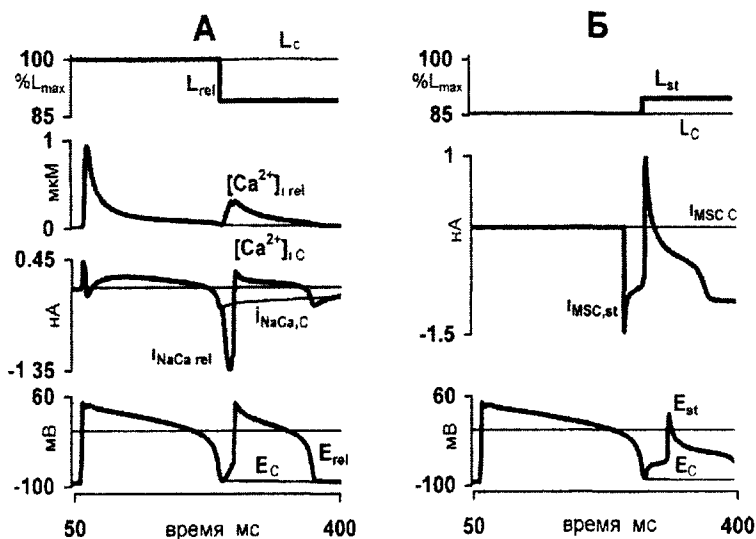


Рис. 3.

ся реполяризирующим, и служит причиной наблюдаемых изменений ПД и i_{NaCa} (Рис 2 Б) в начальную фазу плато. Раннее снижение амплитуды ПД после деформации препятствует активации направленного наружу тока через Na^+-Ca^{2+} обменник (Рис 2 Б, $i_{NaCa,st}$). Кроме того, ток через механочувствительные каналы преобладает над изменениями других токов, вызывая уменьшение амплитуды ПД до тех пор, пока мембранный потенциал не снижается ниже уровня потенциала реверсии для токов через механочувствительные каналы (Рис 2 А, $E_{st,2}$). Ниже этого уровня ток i_{MSC} становится деполяризирующим, что, наряду с влиянием остальных токов, приводит к перекресту кривых ПД в фазу реполяризации (Рис 2 А, $E_{st,2}$ и 3).

В рамках модели были получены и объяснены механизмы возникновения экспериментально наблюдаемых внеочередных потенциалов действия в ответ на быстрое укорочение (Рис 3 А) и быстрое растяжение (Рис 3 Б) ВМ в момент, близкий к окончанию ПД. При уменьшении длины мышцы на 11 % вследствие кооперативных зависимостей распада кальций-тропониновых комплексов возникает всплеск концентрации свободного внутриклеточного Ca^{2+} (Рис 3 А, $[Ca^{2+}]_{i,rel}$), что, в свою очередь, увеличивает деполяризирующий ток через Na^+-Ca^{2+} обменник (Рис 3 А, $i_{NaCa,rel}$). В результате деполяризация дос-

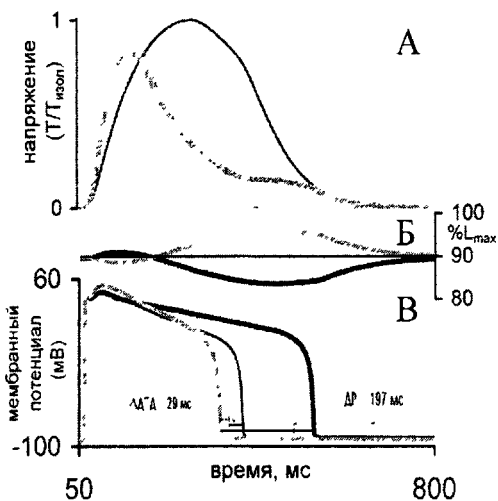


Рис. 4.

тигает порогового значения, что приводит к появлению внеочередного ПД (Рис. 3.А, $E_{c,i}$). В случае быстрого растяжения ВМ (Рис. 3.Б, L_{sp}) главную роль в деполяризации мембраны и возникновении внеочередного ПД (Рис. 3.Б, E_p) играет появление деполяризующего тока через механочувствительные каналы (Рис. 3.Б, imc, st) в ответ на растяжение.

В третьей главе исследовалось влияние механической неоднородности миокарда на электрические явления в кардиомиоцитах. Проводились численные эксперименты на виртуальных последовательных дуплетах. В соответствии с экспериментальными данными о механической неоднородности кардиомиоцитов различных слоев стенки желудочка, параметры моделей - виртуальных мышц, были выбраны таким образом, чтобы одна из мышц была "быстрой" (имеющую большую скорость нарастания изометрического напряжения (Рис. 4.А, тонкая серая линия) и скорость укорочения-расслабления мышцы в ненагруженном состоянии), а другая, соответственно, "медленной" (Рис 4.А, тонкая черная линия). Параметры электрического блока были одинаковы для обеих виртуальных мышц. Показано, что в изометрических условиях сокращения (Рис. 4.Б, тонкие линии), только благодаря различиям во временном ходе сокращения, ПД быстрой ВМ короче,

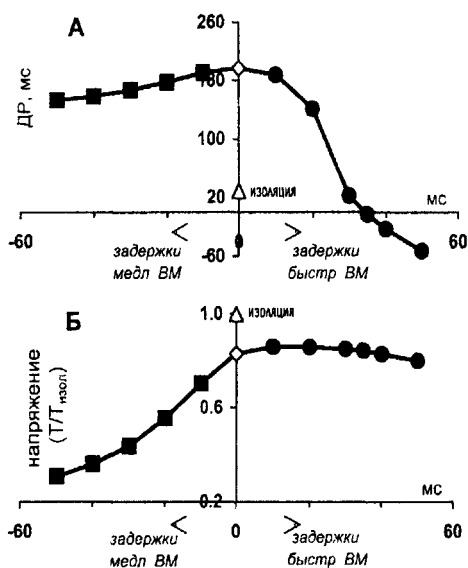


Рис. 5.

чем у медленной ВМ (Рис. 4.В, $\Delta ДПД = 29$ мс, тонкие серая и черная линии, соответственно).

При изометрических сокращениях последовательного дуплета (общая длина пары постоянна, генерируемые напряжения равны), составленного из быстрой и медленной ВМ, вследствие различий в их скоростных характеристиках, мышцы начинают взаимодействовать, изменяя длины друг друга (Рис. 4.Б, жирные линии). В результате взаимодействия в каждый момент времени механические условия сокращения каждой ВМ в дуплете изменяются по сравнению с сокращением в изоляции. Временной ход $[Ca^{Tотр}]$ и $[Ca^{2+}]$, также изменяются. В результате, во-первых, уменьшается амплитуда изометрического напряжения (Рис. 4.А, жирная линия), а во-вторых, увеличивается разница между длительностями ПД медленной (Рис. 4.В, жирная черная линия) и быстрой ВМ (Рис. 4.В, жирная серая линия) по сравнению с разностью между ДПД в изоляции. Возникает дисперсия реполяризации (Рис. 4.В, $ДР = 197$ мс), которая, при отсутствии задержки между стимуляцией виртуальных мышц, совпадает по значению с разностью длительностей ПД.

Проведены численные эксперименты с задержками возбуждения между элементами неоднородного последовательного дуплета, которые имитируют распространение волны возбуждения по сердечной ткани. На рисунке 5 представлена зависимость дисперсии реполяризации (А) и максимального изометрического напряжения, генерируемого дуплетом (Б) при задержках стимуляции медленной ВМ (отрицательные значения оси абсцисс) и при задержках стимуляции быстрой ВМ (положительные значения оси абсцисс). Полученные результаты показывают, что дисперсия реполяризации и напряжение, генерируемое дуплетом, существенным образом зависят от величины задержки и последовательности стимуляции элементов (Рис. 5.Б). Наиболее оптимальной является конфигурация дуплета с задержкой быстрой ВМ на 30-40 мс, так как в этом случае ДР близка к нулю (Рис. 5.А), а напряжение, генерируемое дуплетом, близко к максимальному.

Таким образом, результаты моделирования показывают, что оптимизация механической и электрической функции миокарда (поддержание высокого уровня сократимости миокарда в широком диапазоне задержек и уменьшение аритмогенно опасной дисперсии реполяризации) наблюдается только в том случае, когда задерживается возбуждение быстрой мышцы. При задержках стимуляции медленной мышцы с ростом задержек наблюдается существенное падение пика изометрического напряжения, генерируемого дуплетом, и рост ДР. В случае введения задержек элементов однородных дуплетов, составленных из двух быстрых или двух медленных мышц, также наблюдается значительное падение изометрического напряжения, а также существенная ДР.

На основании полученных результатов моделирования нами выдвинута гипотеза о том, что индивидуальные функциональные свойства кардиомиоцитов должны быть тонко согласованы с последовательностью их активации для обеспечения нормальной функции сердца. При этом кардиомиоциты с более быстрым индивидуальным сократительным циклом, более коротким кальциевым переходным процессом и ДПД должны возбуждаться позднее кардиомиоцитов с более медленными кинетическими характеристиками. Эта гипотеза хорошо согласуется с экспериментальными данными, полученными на изолированных клетках (морская свинка, кролик, собака), выделенных из субэндокардиального и субэпикардиального слоев стенки желудочка. В нормальном миокарда субэндокардиальные клетки более медленно

сокращаются и расслабляются, имеют более длительный ПД и при этом возбуждаются на 10-20 мс раньше, чем субэпикардальные клетки.

В рамках метода виртуальных дуплетов были выявлены внутриклеточные механизмы, лежащие в основе электромеханической неоднородности пары взаимодействующих сердечных мышц. Показано, что существенное значение имеет зависимость распада кальций-тропонинных комплексов от механических условий сокращения, которые изменяются для каждой мышцы в процессе взаимодействия. Кинетика свободного внутриклеточного кальция, в свою очередь, влияя на кальций-зависимые ионные токи, определяет изменение формы и длительности ПД в каждом элементе виртуального дуплета.

В заклучении сформулированы основные результаты, полученные в диссертационной работе:

1. Построена математическая модель сопряжения электрических и механических явлений в клетках сердечной мышцы. Модель адекватно воспроизводит наблюдаемые в эксперименте механохимические и электрические явления в клетках сердечной мышцы, а также процессы, связанные с рециркуляцией кальция, при изометрических и изотонических условиях сокращения кардиомиоцитов, а также в экспериментах с укорочением и удлинением сердечной мышцы в различные моменты сократительного цикла, при варьировании амплитуды, скорости и продолжительности деформации.
2. В рамках математической модели, предсказаны возможные внутриклеточные механизмы, объясняющие зависимость между механическими условиями сокращения сердечных клеток и электрическими явлениями в них. Показано, что в основе большинства наблюдаемых эффектов лежит механозависимость кинетики внутриклеточного кальция. Длина и скорость укорочения/растяжения саркомера через механизмы кооперативности определяют кинетику кальций-тропонинных комплексов, а, значит, и концентрацию свободного кальция. Вследствие этого изменяется временной ход Ca^{2+} -зависимых токов и ПД. Явление кроссовера реполяризации и появление внеочередных ПД в ответ на растяжение кардиомиоцита могут быть объяснены процессами

- активации токов через механочувствительные каналы в ответ на деформацию.
3. Построен виртуальный неоднородный дуплет с использованием математической модели электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах. Показано, что вследствие неоднородности механических характеристик виртуальных мышц возникают различия в их электрическом поведении.
 4. В рамках виртуального дуплета показано, что механическое взаимодействие между элементами дуплета, в значительной степени модулирует потенциалы действия в них. Исследовано поведение неоднородных последовательных дуплетов с задержками стимуляции, имитирующими распространение волны возбуждения по миокарду. Показано, что с увеличением задержек стимуляции при распространении волны возбуждения от медленных кардиомиоцитов к быстрым сократительная функция остается стабильной, а дисперсия реполяризации (показатель, используемый для описания асинхронности реполяризации в миокарде) минимизируется.
 5. Численные эксперименты показали, что в однородных дуплетах, состоящих либо из быстрых, либо из медленных элементов, задержка стимуляции между ними приводит и к существенному падению изометрического напряжения, и к росту дисперсии реполяризации.
 6. Проанализированы возможные внутриклеточные механизмы, лежащие в основе механоэлектрической обратной связи во взаимодействующих виртуальных мышцах. Центральным механизмом является механочувствительное кооперативное связывание кальция с тропонином С, кинетика свободного внутриклеточного кальция и зависимость от этой кинетики Na^+ - Ca^{2+} обменного тока, влияющего на длительность ПД.



По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ

- [1] Соловьева О Э , Кацнельсон Л Б , Викулова Н А , Мархасин В С Математическое моделирование сердечной мышцы // В сб *Материалы II Уральской научно-практической конференции "Медицинская и биологическая кибернетика"* Екатеринбург 2000 С 74
- [2] Викулова Н А , Кацнельсон Л Б Соловьева О Э , Мархасин В С , Gamy A , Noble P Исследование сопряжения между механическими и электрическими явлениями в сердечных клетках при помощи математической модели // В сб *Материалы III Уральской научно-практической конференции "Математические методы в медицине и биологии"* Екатеринбург 2001 С 24
- [3] Викулова Н А , Кацнельсон Л Б , Соловьева О Э , Мархасин В С , Gamy A , Noble P Математическая модель электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах рабочего миокарда // В сб *Тезисы докладов XVIII Съезда физиологического общества имени МП Павлова* Казань 2001 С 318
- [4] Gamy A F Katsnelson I B , Markhasin V S , Noble P J , Solovyova O B , Vikulova N A Mechano-electnc interactions in a ventricular myocyte model // В сб *XXXIV International Congress of Physiological Sciences Abstract CD-ROM* Chnstchurch, New Zealand 2001 a83pdf
- [5] Solovyova O , Vikulova N , Markhasin V , Noble P J , Gamy A , Noble D Modeling of mechano-electnc interactions in heterogeneous myocardium // В сб *Proceedings of 3rd International Workshop on Cardiac Mechano-Electric Feedback and Arrhythmias* Oxford, England 2002 P 72
- [6] Solovyova O , Vikulova N , Markhasin V , Noble P J , Gamy A , Noble D Mathematical modelling of mechanical effects on action potential duration in heterogeneous myocardium // *The Journal of Physiology* 2002 V 544P P 22S
- [7] Vikulova N , Solovyova O , Markhasin V , Kohl P Modelling cross-talk of mechano-dependent Ca^{2+} handling and stretch-activated currents in cardiac mechanoelectric feedback // *The Journal of Physiology* 2002 V 544P P 63S
- [8] Solovyova O , Vikulova N , Markhasin V , Kohl P A novel method for quantifying the contribution of different intracellular mechanisms

- to mechanically induced changes in action potential characteristics // Lecture Notes in Computer Science 2003 V 2674 P 8-17
- [9] Solovyova O , Vikulova N , Katsnelson L B , Markhasin V S , Noble P J, Garry A F , Kohl P , Noble D Mechanical interaction of heterogeneous cardiac muscle segments in silico effects on Ca^{2+} handling and action potential // International Journal of Bifurcation and Chaos 2003 V 13 P 3757-3782
- [10] Vikulova N A , Solovyova O E, Markhasin V S , Kohl P Mechanisms of cardiac mechanoelectric transduction predicted by mathematical modelling // В сб *International Symposium "Biological Motility"* Pushchino 2004 P 71-73
- [11] Викулова Н, Мархасин В С, Соловьева О Деформация как аритмогенный фактор Предсказания модели // Российский физиологический журнал им И М Сеченова 2004 Т 90(8) Ч 1 С 426-427
- [12] Мархасин В С , Викулова Н А , Гурьев В Ю , Кацнельсон Л Б , Коновалов П В , Соловьева О Э , Сульман Т Б Математическое моделирование в физиологии и патофизиологии сердца // Вестник уральской медицинской академической науки 2004 №3 С 31-37
- [13] Solovyova O S, Vikulova N A, Konovalov P V, Kohl P, Markhasin V S Mathematical modelling of mechano-electric feedback in cardiomyocytes // Russian Journal of Numerical Analysis and Mathematical Modelling 2004 V 19(4) P 331-351
- [14] Solovyova O , Katsnelson L B , Kohl P , Konovalov P , Lookin O , Moskvina A S , Vikulova N , Protsenko Yu L , Markhasin V S // Activation sequence as a key mechanism of functional self-organization of myocardium Philosophical Transactions of The Royal Society A В печати

Напечатано с готового оригинал-макета

Издательство ООО "МАКС Пресс"

Лицензия ИД N 00510 от 01.12.99 г.

Подписано к печати 28.04.2005 г.

Формат 60x90 1/16. Усл.печ.л.1,5. Тираж 70 экз. Заказ 258.

Тел. 939-3890. Тел./факс 939-3891.

119992. ГСП-2, Москва, Ленинские горы, МГУ им. М.В. Ломоносова,
2-й учебный корпус, 627 к.

01.04

843

19 2015