

На правах рукописи



СУЛЬМАН Татьяна Борисовна

**МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ
НАРУШЕНИЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ И
МЕХАНИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА ПРИ
ПЕРЕГРУЗКЕ КАРДИОМИОЦИТОВ КАЛЬЦИЕМ**



003 172303

03 00.02 – биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

1 6 ИЮН 2008

Пушино 2008

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

Научные руководители: член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор
Мархасин Владимир Семенович
кандидат физико-математических наук
Кацнельсон Леонид Борисович

Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук,
Цатурян Андрей Кимович
доктор физико-математических наук,
Алиев Рубин Ренатович

Ведущая организация: Московский Государственный Университет, факультет фундаментальной медицины, г Москва

Защита состоится “3” июня 2008 г в 10-30 часов на заседании совета Д 002.093.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций при Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН по адресу 142290, г Пушкино Московской обл., ул Институтская, 3, ИТЭБ РАН.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной библиотеке НЦБИ РАН по адресу 142290, г. Пушкино Московской обл., ул. Институтская, 3, ИТЭБ РАН

Автореферат разослан “___” _____ 2008 г

Ученый секретарь совета Д 002 093 01
по защите докторских и
кандидатских диссертаций,
к ф -м н



Н Ф Ланина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Нарушения ритма – распространенные и потенциально смертельные осложнения при различных заболеваниях сердца. Сложность внутриклеточных механизмов, лежащих в основе аритмогенеза, затрудняет анализ этого явления. Математические модели могут помочь как в обнаружении причинно-следственных связей между событиями, приводящими к аритмии, так и в определении возможных мишеней для терапевтических воздействий

Кальциевая перегрузка кардиомиоцитов – один из важных факторов, способствующих нарушениям ритма на клеточном уровне. Например, чрезмерное накопление кальция в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов при сердечной недостаточности может приводить к ранней и поздней постдеполяризации, экстрасистолии и фибрилляции вследствие спонтанного высвобождения кальция (Kihara & Morgan, Circ Res, 1991, Lakatta & Guarnieri, J Cardiovasc Electrophysiol, 1993)

Одной из самых распространенных причин кальциевой перегрузки и возникновения острой сердечной недостаточности, связанной с этой перегрузкой является пониженная активность натрий-калиевой АТФ-азы в кардиомиоцитах (Noble & Varghese, 1998). В свою очередь, уменьшение активности этого фермента характерно для ряда патологических ситуаций. Например, хроническая сердечная недостаточность инициирует экспрессию фетальной изоформы $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФазы}$, которая обладает пониженной активностью (Charlemagne et al., J Biol Chem, 1994). Известно, что уменьшение активности этого фермента возникает также и при гипокалиемии (Charlemagne et al., J Biol Chem, 1994). Перегрузка кардиомиоцитов кальцием может возникнуть и как результат терапии, применяемой при хронической сердечной недостаточности, в частности при использовании сердечных гликозидов, поскольку при приеме в терапевтических дозах они также уменьшают активность $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-насоса}$

Математическое моделирование является важным теоретическим методом изучения аритмогенеза. Оно помогает выделить сложные цепочки внутриклеточных механизмов, приводящих к аритмиям, а также наметить возможные мишени для фармакологической коррекции. Опубликован, в частности, ряд работ, посвященных моделированию нарушений ритма, вызванных перегрузкой клеток миокарда

кальцием (Noble & Varghese, 1998, Noble, Bioessays, 2002, Noble, Science, 2002, Luo, & Rudy, Circ Res, 1994), в т ч и при пониженной активности натрий-калиевого насоса (Noble & Varghese, 1998)

Однако ни в одной из этих работ не изучался возможный вклад механических факторов в исследуемый феномен. Между тем, этот вклад может быть существенным, поскольку сердечные патологии часто вносят неоднородные изменения в распределение пассивных и активных механических свойств кардиомиоцитов в стенке камер сердца и тем самым значительно изменяют механические условия сокращения кардиомиоцитов (Lew, Am J Physiol, 1987, Tennant & Wiggers, Am J Physiol, 1935; Gallagher et al., Circ Res, 1986)

Цели и задачи исследования. Цель данной диссертационной работы — выяснить при помощи математического моделирования внутриклеточные механизмы нарушений электрической и сократительной активности кардиомиоцитов при их перегрузке кальцием, оценить возможный вклад механо-электрических обратных связей в эти нарушения и определить теоретически возможные подходы к восстановлению электрической и механической функции миокарда, нарушенной при кальциевой перегрузке

Для достижения поставленных целей были сформулированы и решены следующие задачи

– Разработка математической модели электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах с учетом нового, более точного описания кинетики силонегенерирующих поперечных мостиков и вязко-упругой реологической структуры миокардиальной ткани

– Выяснение в рамках модели молекулярно-клеточных механизмов возникновения нарушений ритма и ослабления механической активности кардиомиоцитов в условиях перегрузки кардиомиоцита кальцием

– Изучение вклада механических условий сокращения в ритмогенез и теоретический анализ механизмов, лежащих в основе этого вклада.

– Изучение в математической модели теоретически возможных путей коррекции электрической и механической функции кардиомиоцитов при их перегрузке кальцием

Методы исследования. Электрическое и механическое поведение сердечной мышцы описывается с помощью системы обыкновен-

ных дифференциальных уравнений. В связи с большим количеством уравнений в системе (а именно, 31 дифференциальное уравнение) возможности ее качественного анализа крайне ограничены. Поэтому основным методом исследования является численное интегрирование. С учетом жесткости системы, описывающей электрическая и механическую активность сердечной мышцы, использовался метод Рунге-Кутты четвертого порядка с шагом интегрирования, обеспечивающим достаточную точность расчетов.

Данные физиологических и биохимических экспериментов использовались также для оценки допустимых интервалов изменения большинства параметров модели, которые затем были верифицированы в численных экспериментах.

Основные положения, выносимые на защиту:

1 Построена математическая модель электрической и механической функции миокарда Екатеринбург-Оксфорд 2006 – существенная модификация предшествующей версии модели Екатеринбург-Оксфорд (Solovuyova e a., 2003) за счет более адекватного описания механического блока в ней.

2 Модель адекватно воспроизводит не только нормальное поведение сердечной мышцы, но и нарушения ее электрической и механической функции при перегрузке кардиомиоцитов кальцием.

3 Одним из ключевых механизмов нарушения электрической и сократительной функции кардиомиоцитов при их перегрузке кальцием являются механо-электрические обратные связи в кардиомиоците.

4 Механическая неоднородность кардиомиоцитов (т.е. их различные механические характеристики в различных участках сердечной мышцы) при их перегрузке кальцием может способствовать нарушениям ритма.

5 Среди возможных путей кальциевой разгрузки и коррекции электрической и механической функции кардиомиоцитов наиболее эффективным является одновременное снижение скорости кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума и снижение медленного кальциевого тока.

Научная новизна. Впервые построена математическая модель нарушений электрической и механической функции миокарда при перегрузке кардиомиоцитов кальцием. В рамках модели впервые установлена ключевая роль механических условий сокращений миокарда как аритмогенного фактора при перегрузке кардиомиоцитов кальцием;

показано, что механизм, инициирующий экстрасистолы при такой перегрузке связан с кооперативностью сократительных и регуляторных белков.

Разработанная модель впервые использована как инструмент для оценки эффективности различных терапевтических методов коррекции таких нарушений

Научная и практическая значимость. Нами существенно модифицирована интегративная математическая модель «Екатеринбург-Оксфорд» (Solovyova et al., Int J of Bifurcation & Chaos, 2003) – модель механического поведения кардиомиоцитов с учетом их электрической и кальциевой активации. Модель адекватно воспроизводит широкий круг явлений из области электрофизиологии и биомеханики миокарда. Модель была использована для выявления и анализа механизмов, лежащих в основе нарушений ритма при перегрузке кардиомиоцитов кальцием.

Важным для патофизиологии приложением работы является моделирование феномена, характеризующего одну из важных сторон развития острой сердечной недостаточности – внезапное падение силы сокращений и нарушения ритма. Также практически значимым является анализ различных методов восстановления электрической и механической функции сердечной мышцы в этих условиях.

Публикации и апробация работы. Основные положения работы и научные результаты докладывались на 11-ти научных конференциях XIX съезде Физиологического общества им Павлова (Екатеринбург, 2004), всероссийской конференции молодых исследователей «Физиология и медицина» (Санкт-Петербург, 2005), Европейской конференции по математической и теоретической биологии (Дрезден, Германия, 2005), конференции «Демидовские чтения на Урале» (Екатеринбург, 2006), международном симпозиуме «Биологическая подвижность: фундаментальные исследования и практика» (Пушино, 2006), международной конференции «Математическая биология и биоинформатика» (Пушино, 2006), съезде физиологов Урала (Екатеринбург, 2006), международной британско-российской школе-семинаре для молодых ученых «Мышцы: Структура, Функция, Регуляция» (Екатеринбург, 2007), 4-м международном симпозиуме по сердечным механо-электрическим обратным связям и аритмиям (Оксфорд, Великобритания, 2007), IV всероссийской школе-конференции по физиологии кровообращения (Москва, 2008), VII международном симпозиуме

«Биологическая подвижность достижения и перспективы» (Пушино, 2008), а также в докладах на научных семинарах в Институте иммунологии и физиологии УрО РАН (Екатеринбург)

По теме диссертации опубликовано 19 работ, в том числе 5 статей в отечественных и международных рецензируемых журналах (среди которых 4 из списка, рекомендуемого ВАК), 1 статья в сборнике научных трудов, а также тезисы докладов в материалах отечественных и международных конференций

Исследования, проведенные в рамках диссертационной работы, поддержаны грантами РФФИ №03-04-48260-а, 05-04-48352-а, 07-04-96113-р_урал_а, грантами поддержки молодых ученых УрО РАН 2004, 2006, фонда The Wellcome Trust CRIG #074152/Z04/Z, грантами Целевой программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальная наука-медицине», грантом Президента РФ НШ 4923 2006 4. Участие в конференциях по тематике диссертации поддерживалось грантами оргкомитетов конференций и тревел-грантами РФФИ и президиума УрО РАН

Структура и объем работы Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, заключения, списка использованной литературы и приложений Объем диссертации - 149 страниц, 26 рисунков, 1 таблица

Благодарности. Автор считает приятным долгом поблагодарить своих научных руководителей члена-корр РАН д б н В С Мархасина, к ф -м н Л Б Кацнельсона, коллег. д ф -м н О Э Соловьеву, П В Коновалова, к ф -м н Н А Викулову, Т В. Чумарную

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Краткое описание математической модели

Разработанная нами математическая модель электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах ЕО-2006 (новая версия модели Екатеринбург-Оксфорд) описывает в виде системы нелинейных обыкновенных дифференциальных уравнений механическое поведение кардиомиоцитов, а также процессы его электрической и кальциевой активации, протекающие в кардиомиоцитах в течение сократительного цикла (Solovyova e a , Int J of Bifurcation & Chaos, 2003) Эта модель была получена в результате объединения электрофизиологической модели кардиомиоцита Noble '98 (Noble e a , Can J Cardiol, 1998) и модели механической активности миокарда, разработанной в Екатерин-

бурге (Katsnelson et al., J Theor Biol, 2004)

Существенная особенность новой версии модели по сравнению с предыдущей версией (Solovyova et al., Int J of Bifurcation & Chaos, 2003) – усовершенствования ее механического блока. Во-первых, в реологическую схему модели введены вязкие элементы. Во-вторых, новая версия модели отличается более точным описанием кинетики поперечных мостиков (см. ниже уравнение (3)).

Специфическое изменение мембранного потенциала кардиомиоцита E во время возбуждения кардиомиоцита – потенциал действия (ПД) – происходит благодаря активации-инактивации разнообразных входящих и выходящих Na^+ , Ca^{2+} и K^+ ионных токов через сарколемму, нелинейно зависящих от величины E и концентраций ионов Ca^{2+} , Na^+ и K^+ внутри и вне клетки, а также ряда вспомогательных переменных (Noble et al., Can J Cardiol, 1998)

$$\frac{dE}{dt} = -\frac{1}{C_m} (i_{stim} + i_{Na} + i_{to} + i_{CaL} + i_{pNa} + i_{NaCa} + i_K + i_{K1} + i_{NaK} + i_{bNa} + i_{bCa}) \quad (1)$$

Кальциевые токи внутри направленный ток i_{CaL} через каналы L-типа и Na^+ - Ca^{2+} обменный ток i_{NaCa} играют важнейшую роль в сопряжении возбуждения с сокращением. Ток i_{CaL} является стимулом для кальцием вызванного высвобождения кальция из саркоплазматического ретикулума (СР), которое эффективно повышает концентрацию свободного кальция ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) в саркоплазме, приводя к активации сократительных белков. Ток i_{NaCa} поддерживает гомеостаз кальция в клетке, регулируя обмен кальция с внеклеточной средой в течение сократительного цикла

Изменение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (Ca^{2+} переход) определяется сумой всех потоков Ca^{2+} через сарколемму и внутри клетки

$$\frac{d[\text{Ca}^{2+}]_i}{dt} = \sum_k i_{k,Ca} + i_D + i_{rel} - i_{up} - \frac{dA}{dt} - \sum_j \frac{dB_j}{dt}, \quad (2)$$

где $i_{k,Ca}$ – потоки Ca^{2+} с транссарколеммальными ионными токами, i_D – диффузия кальция из диадического пространства, объединяющего каналы L-типа с высвобождающими каналами СР, i_{rel} и i_{up} – потоки кальция, высвобождающегося из СР и поглощающегося обратно, два последних слагаемых описывают кинетику комплексов Ca^{2+} с кальций-связывающими лигандами, включая регуляторный белок тропонин С (ТnC). Уравнение для концентрации CaTnC -комплексов (А)

описано в следующем подразделе (см уравнение (4))

Активация сократительных белков. Изменение $[Ca^{2+}]_i$ непосредственно влияет на механические процессы в кардиомиоцитах. Взаимодействие кальция с регуляторным белком тропонином С (ТnC) обуславливает образование силогенерирующих поперечных мостиков между актином и миозином, что в модели описывается кинетическим уравнением для усредненной доли силогенерирующих мостиков (N) в активном саркомере

$$\frac{dN}{dt} = k_+(A, L_{CE}, \frac{dL_{CE}}{dt}) (1 - N) - k_-(\frac{dL_{CE}}{dt}) N \quad (3)$$

Вероятность прикрепления-открепления мостиков зависит от $[CaTnC]$, длины саркомера L_{CE} и от скорости ее изменения dL_{CE}/dt (Katsnelson e a , J Theor Biol, 2004). В связи с этим не только кинетика поперечных мостиков напрямую влияет на механические параметры состояния саркомера, но и сама зависит от них.

Одно из существенных отличий новой версии модели Екатеринбург-Оксфорд (ЕО-2006) от предыдущей (ЕО-2003) (Solovyova e a , Int J of Bifurcation & Chaos, 2003) заключается в более точном описании кинетики прикрепления-открепления поперечных мостиков, т.е. в описании величины N , которая становится фазовой переменной системы дифференциальных уравнений и оказывается непропорциональной концентрации CaTnC-комплексов A (Sulman e a , Bull Math Biol, 2008). Эта инновация оказалась принципиально важной для исследования нарушений ритма, предпринятого в данной работе. Уравнение для концентрации комплексов CaTnC A имеет вид

$$\frac{dA}{dt} = a_{on} (A_{tot} - A) [Ca^{2+}]_i - a_{off} (N/A) A. \quad (4)$$

Важнейшей особенностью механо-химического блока модели является учет кооперативных механизмов активации сократительных белков (Izakov e a , Circ Res, 1991, Katsnelson & Markhasin, J Mol Cell Cardiol, 1996). Ключевую роль в работе играет кооперативность I-го типа (кооперативность Xb-CaTnC), которая заключается в следующем: сродство ТnC к кальцию увеличивается при увеличении концентрации поперечных мостиков, прикрепленных к актиновой нити около данного комплекса.

Кооперативность Xb-CaTnC формализована в виде убывающей зависимости константы скорости распада a_{off} CaTnC комплекса от ве-

личины N/A в уравнении (4) Непропорциональность фазовых переменных N и A (в частности, в фазу расслабления) оказывается принципиально важной для возникновения нарушений ритма, исследуемых в данной работе

Заметим, что ввиду зависимости величины N от L_{CE} и dL_{CE}/dt (см. уравнение (4)) и зависимости A от N (см. уравнение (4)), кинетика кальция оказывается также механозависимой

Механическая активность кардиомиоцитов. Временной ход изменения доли силогенерирующих мостиков N определяет собственно механическую активность кардиомиоцитов – изменение их длины L и силы F в течение сократительного цикла в различных режимах сокращения (изометрическом, изотоническом, ауксотоническом) В качестве сократительной единицы миокарда рассматривается контрактильный элемент CE (см. Рис 1), (т.е. совокупность однородных саркомеров), погруженный в реологическую среду (феноменологически описываемую упругими и вязко-упругими элементами, имитирующими пассивно-упругие свойства кардиомиоцитов). Следовательно, L и F тесно связаны с изменением длины L_{CE} и активной силы F_{CE} сократительного элемента и свойствами элементов реологической схемы, которые задаются в виде входных функций модели

Сила F_{CE} , развиваемая контрактильным элементом, полагается пропорциональной произведению доли N присоединенных поперечных мостиков на усредненную силу p , генерируемую одним мостиком при текущей скорости изменения длины саркомера $v=dL_{CE}/dt$

$$F_{CE} = \lambda p(v) N, \quad (5)$$

где λ – коэффициент пропорциональности

В силу используемой в модели реологической схемы и режима сокращения кардиомиоцита, например, при постоянной длине $L=L'$ или при постоянной нагрузке $F=F'$ получаются дифференциальные уравнения для длины клетки L и длины саркомеров L_{CE} , правые части которых в силу уравнения (5) зависят от доли силогенерирующих мостиков N .

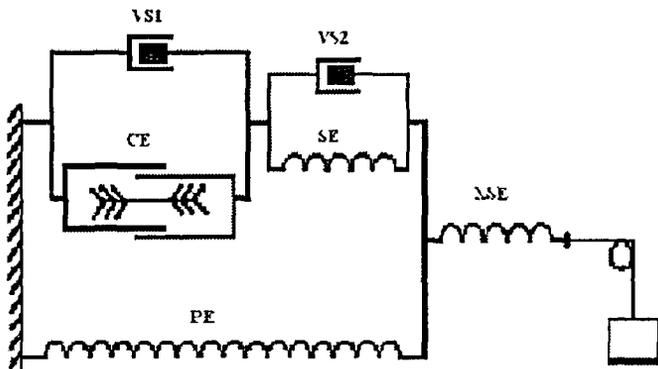


Рис. 1. Реологическая схема кардиомиоцита CE – контрактильный элемент, SE и XSE – последовательные упругие элементы, PE – параллельный упругий элемент, VS₁ и VS₂ – вязкие элементы

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Моделирование эффектов сопряжения сокращения с возбуждением. Модель описывает широкий круг биомеханических явлений и, кроме того, благодаря сопряжению электрического и механохимического блока она адекватно описывает изменения временного хода ПД в ответ на изменения механических условий сокращения или при механических воздействиях в процессе сокращения (Solovyova et al., Int J of Bifurcation & Chaos, 2003).

Молекулярно-клеточные механизмы механо-электрической обратной связи Количественный анализ результатов численных экспериментов позволил нам установить, что центральным звеном механо-электрической связи во всех эффектах влияния механических условий сокращения на электрическую активность кардиомиоцитов, воспроизведенных в рамках семейства моделей Екатеринбург-Оксфорд (в т ч модели EO-2006), является механозависимая кооперативная модуляция кинетики связывания-распада CaTnC комплекса, которая отражается на временном ходе и длительности Ca²⁺ перехода. Это изменение кинетики кальция в рамках нашей модели приводит к кальций-зависимой модуляции Na⁺-Ca²⁺ обменного тока i_{NaCa} , что является триггером для механовызванного изменения генерации ПД, т е вызывает небольшие изменения потенциала, которые, в свою очередь, при-

водят к изменению потенциал-зависимых токов (калиевых, натриевых, кальциевых), существенно модулирующему итоговое изменение потенциала

В отличие от других моделей, описывающих проявления механо-электрической связи (как правило, эффекты статического растяжения сердечного препарата) в основном благодаря активации механочувствительных токов в ответ на механические возмущения, в нашей модели механозависимая кинетика свободного кальция и кальций-зависимая регуляция кальциевых токов играют ключевую роль в динамическом сопряжении сокращения с возбуждением и позволяют объяснить широкий круг экспериментальных данных без привлечения механизмов активации механочувствительных каналов

Изменение нормальных параметров электромеханического и механо-электрического сопряжения, могут приводить к нарушению регуляции электрической и механической функции миокарда. Ниже мы рассматриваем пример влияния механического фактора в появлении экстрасистол при ослабленной функции $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФазы, участвующей во внутриклеточном ионном метаболизме и, следовательно, влияющей на развитие ПД

Моделирование механозависимых аритмогенных эффектов при ослабленной активности $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФазы. В рамках модели ЕО-2006 мы изучали аритмогенную активность кардиомиоцитов, возникающую при их перегрузке кальцием, в частности вследствие ослабленной функции натрий-калиевого насоса. Перегрузка проявляется в значительном росте концентрации Ca^{2+} в терминальных цистернах СР, и его диастолического уровня в цитозоле

Перегрузка кардиомиоцитов кальцием, в т.ч. перегрузка, вызванная ослаблением $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ насоса, характерна для ряда сердечных патологий (включая сердечную недостаточность)

В этих условиях мы обнаружили в численных экспериментах при фиксированной длине виртуального препарата $0.9L_{\text{max}}$ (где L_{max} соответствует длине препарата миокарда, при которой он развивает максимальное активное изометрическое напряжение), что в отличие от частоты 60 стимулов/мин, при которой сохраняется устойчивый нормальный ритм, увеличение частоты до 75 стимулов/мин приводит к следующим событиям (Рис. 2). Краткий промежуток роста амплитуд изометрического напряжения сменяется их постепенным снижением. Затем происходит внезапное резкое падение силы, сопровождаемое

экстрасистолами (Рис. 3). После исчезновения экстрасистол возникает переходный процесс, в котором амплитуды силы и кальциевых переходов альтернируют на фоне потенциалов действия постоянной амплитуды и продолжительности. При этом нарушения электрического ритма приобретают характер стабильной задержанной постдеполяризации. Постепенно большие амплитуды силы уменьшаются, а меньшие увеличиваются, сходясь, таким образом, к некоторому промежуточному уровню и выходя на стационарный режим сокращений на этом уровне, причем в этих стационарных условиях каждый регулярный потенциал действия по-прежнему сопровождается задержанной постдеполяризацией. В результате устанавливается стабильная картина, однако амплитуды силы сокращений в этом стационаре значительно снижены по сравнению с нормой. Эта последовательность событий весьма напоминает ту, что возникает при развитии острой сердечной недостаточности. Аналогичные нарушения при частоте 75 стимулов/мин (и выше) наблюдались в модели на всех длинах $\leq 0.95L_{max}$.

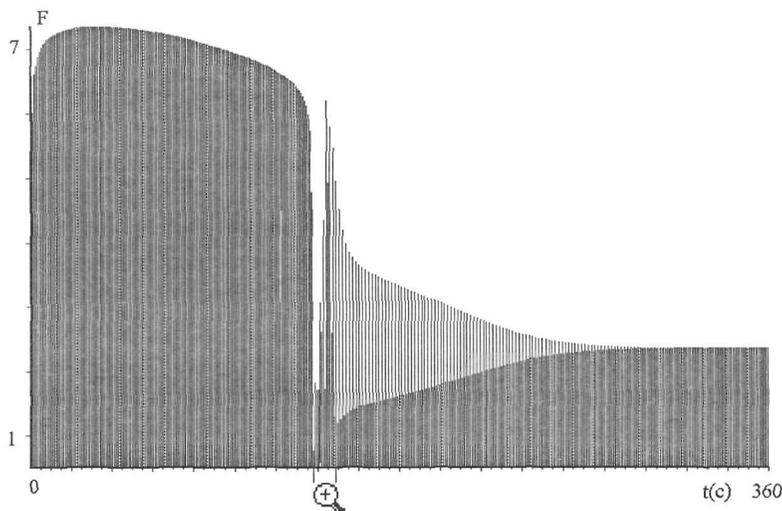


Рис. 2. Напряжение F в серии сокращений в модели кардиомиоцита с ослабленной активностью натрий-калиевого насоса ($K_{m,Na}=40$ мМоль). $L=0.9L_{max}$; частота – 75 стимулов/мин. Стрелка со значком увеличительного стекла указывает на момент, раскрытый в деталях на Рис. 3.

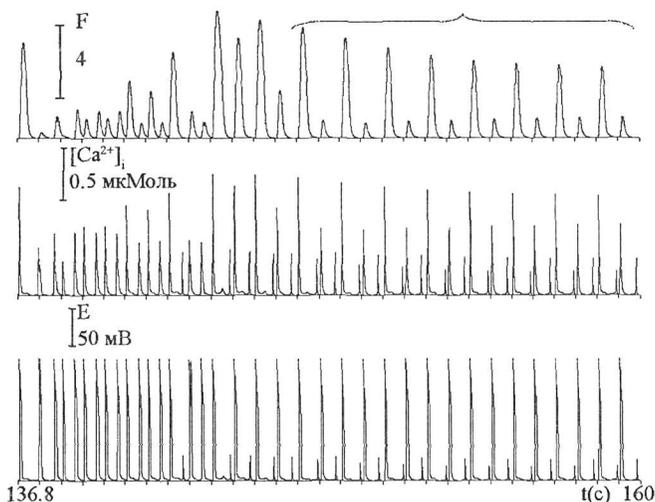


Рис. 3. Детали сокращений, показанных на Рис. 2. Сверху вниз: временной ход развития напряжения F , кальциевые переходы $[Ca^{2+}]_i$ и мембранный потенциал E . Метки под осью времени обозначают моменты регулярных стимулов.

Анализ механизмов, вызывающих нарушения ритма в этих численных экспериментах подтвердил, что основным условием возникновения экстрасистол является рост $[Ca^{2+}]_i$ в СР и в цитозоле, что увеличивает вероятность спонтанного высвобождения Ca^{2+} в промежутке между регулярными стимулами. Это в свою очередь вызывает внеочередной запуск Na^+-Ca^{2+} обменного тока, индуцирующего экстрасистолу. Дополнительный механозависимый триггер оказался вовлечен в описанный выше процесс. Он выглядит следующим образом: в конце фазы расслабления после систолы, вызванной очередным стимулом, появляется очень небольшое приращение в кальциевом переходе, вызванное распадом комплексов $CaTnC$, возникшее благодаря механизму кооперативного влияния кинетики прикрепления/открепления поперечных мостиков на сродство TnC к кальцию (см. выше – кооперативность $Xb-CaTnC$, в частности, непропорциональность фазовых переменных N и A в зависимости $a_{off}(N/A)$ в уравнении (4)). Этого малого приращения оказывается достаточно на фоне повышенного уровня Ca^{2+} , чтобы индуцировать вышеупомятое внеочередное высвобождение кальция из СР. Таким образом, в рамках модели обнаружен новый

(механический) фактор, способный индуцировать нарушения ритма в условиях умеренной кальциевой перегрузки кардиомиоцитов процессы прикрепления/открепления силогенерирующих поперечных мостиков.

Для доказательства роли кооперативности Xb-CaTnC в описанном триггерном механизме мы провели в модели численный эксперимент, в котором эта кооперативность была элиминирована в фазу расслабления. Результат этого эксперимента показан на Рис 4

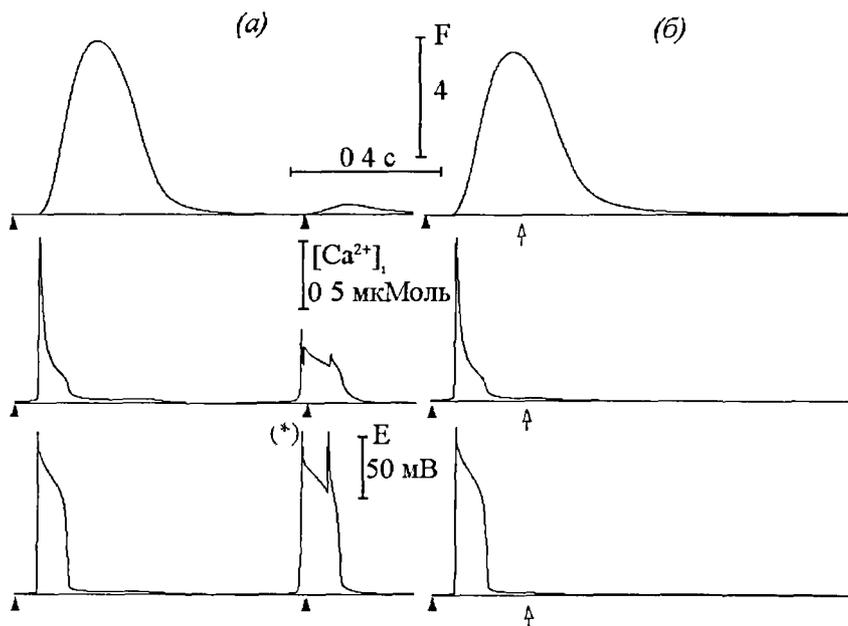


Рис. 4. (а) – детали первого регулярного сокращения с последующей экстрасистолой, показанного на Рис 3 Треугольные метки под осями указывают на моменты регулярной стимуляции (б) – специальный численный эксперимент, демонстрирующий роль кооперативности первого типа в аритмогенезе и представляющий собой модификацию регулярного цикла сокращение-расслабление, показанного в колонке (а) В момент времени, обозначенный прозрачной стрелкой, кооперативность 1-го типа была элиминирована, что привело к исчезновению экстрасистолы

Дальнейшие исследования показали, что механические условия весьма многообразно проявляют себя в качестве аритмогенного фак-

тора при ослаблении $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ насоса. А именно, на возникновение экстрасистол влияют длины саркомеров в кардиомицитах в ходе цикла сокращение-расслабление, величина постнагрузки, а также механическое взаимодействие кардиомицитов, различающихся степенью ослабления активности $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ насоса.

В частности, наряду с представленным на Рис. 2 и 3 «миокардиальным препаратом», называемым далее патологическим образцом (П-образцом), мы рассмотрели еще один виртуальный образец, отличающийся от П-образца только несколько меньшей степенью ослабления $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ насоса. Этот образец был назван подпороговым (ПП-образцом). В нем (в отличие от П-образца) не наблюдались нарушения ритма в случае регулярной стимуляции при длинах $0,9L_{\max}$ и $0,95L_{\max}$. Однако и в нем возникали экстрасистолы при изменении механических условий, например при уменьшении начальной длины или постнагрузки.

С целью изучения вклада механического взаимодействия кардиомиоцитов в развитие аритмии мы моделировали три конфигурации последовательного механического соединения ПП-образца с различными партнерами. (1) дуплет {П-образец, ПП-образец}, (2) дуплет {ПП-образец, ПП-образец}, (3) дуплет {Н-образец, ПП-образец}, где Н-образец представляет нормальный миокард. Во всех случаях рассматривались изометрические сокращения дуплета на длине $0,9L_{\max}$ при частоте стимуляции 75 стимулов/мин. Задавалась различная последовательность задержек стимуляции ПП-элемента дуплета относительно партнера (0 мс, или 30 мс, или -30 мс). Было обнаружено, что экстрасистолы возникали в ПП-элементе дуплета как при синхронной стимуляции так и при его задержанной или напротив опережающей стимуляции в рамках дуплета (1). То же самое происходило в обоих экземплярах ПП-образца в дуплете (2). Более того, экстрасистолы в ПП-элементе возникали даже при его взаимодействии с нормальным элементом в рамках дуплета (3), если ПП-элемент стимулировался первым. Во всех перечисленных случаях ПП-элемент дополнительно укорачивался в ходе сокращений по сравнению с его изометрическими сокращениями в изоляции.

Нами в рамках модели предложены и проанализированы различные подходы к подавлению аритмогенной активности кардиомиоцитов.

Было обнаружено, что восстановление нормальных параметров

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФазы не всегда обеспечивает восстановление нормальных сокращений и ритма В этом случае результат существенно зависит от фаз развития «острой сердечной недостаточности», во время которых было произведено восстановление (т е возврат к нормальному значению $K_{m,Na}$) В частности, возврат производился

- (а) во время экстрасистолической фазы, обозначенной горизонтальной квадратной скобкой на Рис 5,

- (б) после каждого низкоамплитудного (нечетного) сокращения во время фазы переходного альтернанса, сменившего фазу экстрасистол (момент одного из таких воздействий обозначен вертикальной стрелкой под осью времени на Рис 5А, 5Б),

- (в) после каждого высокоамплитудного (четного) сокращения во время этой же фазы альтернанса (момент одного из таких воздействий обозначен двойной стрелкой под осью времени на Рис. 5А, 5В)

Эксперименты показали, что нормальная электрическая и механическая активность полностью восстанавливалась только в случае (в) (см рисунок 5В) В случае (б) возврат к нормальным параметрам $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ насоса приводил к еще одной переходной экстрасистолической фазе, которая затем сменялась устойчивой экстрасистолией (рисунок 5Б) Подобная картина возникала также в случае (а).

В отличие от приведенных выше данных, полученных при длине образца $0,9L_{\max}$, все нарушения ритма в П-образце при длине $0,95L_{\max}$ подавлялись, как только восстанавливалась нормальная активность $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ насоса ($K_{m,Na} = 24,2$ мМоль), в какой бы момент это восстановление ни производилось.

Важно, что во всех вышеперечисленных случаях (а), (б), (в) нормальная электрическая и механическая функции полностью восстанавливались при любых механических условиях, если активность насоса выводилась на уровень несколько выше контрольного (т е выше первоначальной нормы) Например, дополнительного увеличения активности насоса (с помощью 5%-ного уменьшения $K_{m,Na}$ по сравнению с контрольным значением) оказалось достаточно для полного, независящего от механических условий восстановления нормального электрического и механического поведения П-образца.

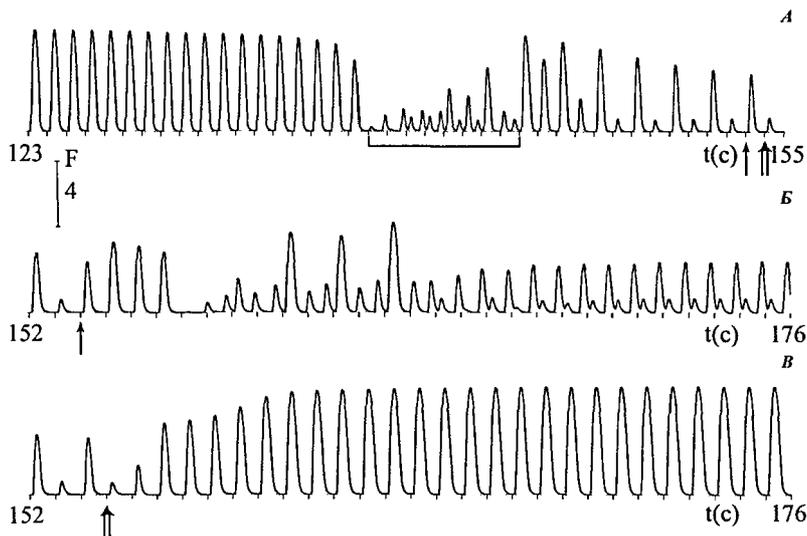


Рис. 5. Эффекты восстановления активности $\text{Na}^+\text{-K}^+$ насоса в различные моменты **А** увеличенный фрагмент Рис 2, показывающий силу П-образца во время наступления «острой сердечной недостаточности» Две вертикальные стрелки (одинарная и двойная) показывают моменты возврата к контрольному (нормальному) состоянию $\text{Na}^+\text{-K}^+$ - насоса в модели насос восстанавливался либо после нечетного, либо после четного сокращения в фазу альтернанса **Б, В** результаты каждого из этих вариантов восстановления нормальной активности насоса

Эти данные показывают, что возможны ситуации, когда для ликвидации патологического состояния необходимо «перерегулировать» некоторые внутриклеточные процессы с выведением их на уровень активности, превосходящий норму

Итак, эффект восстановления активности $\text{Na}^+\text{-K}^+$ АТФазы оказался неустойчивым Кроме того, в ряде ситуаций активность $\text{Na}^+\text{-K}^+$ насоса не может быть увеличена из-за ограничения энергетических ресурсов, типичного для многих сердечных патологий. Поэтому нужны и другие пути коррекции, в частности направленные на то, чтобы понизить перегрузку кардиомиоцитов кальцием Заметим, что Ca^{2+} , поступающий в цитозоль из СР и внеклеточных источников в ходе каждого регулярного сокращения, затем частично возвращается в СР, а частично выводится наружу с помощью натрий-кальциевого обмена Поэтому кальциевая разгрузка перегруженных клеток может а рпои

достигаться тремя путями уменьшением активности кальциевой АТФазы СР, уменьшением медленного кальциевого тока, ускорением Na^+ - Ca^{2+} обмена

Численные эксперименты, проведенные на П-образце, показали, что каждое из следующих воздействий, применяемых по отдельности, восстанавливало нормальный ритм и механические характеристики сокращений, близкие к норме двадцатипроцентное уменьшение медленного кальциевого тока, восемнадцатипроцентное уменьшение активности кальциевой АТФазы СР, двадцатипроцентное увеличение скорости Na^+ - Ca^{2+} обмена. Во всех этих случаях уровень Ca^{2+} в СР понижался. Правда ускорение Na^+ - Ca^{2+} обмена понижало $[\text{Ca}^{2+}]$ в СР только на 7%, а каждое из двух других воздействий понижало кальциевую загрузку СР на 20%

Следует заметить, что ни одно из перечисленных воздействий не приводило к полной нормализации механической функции П-образца (в сравнении с Н-образцом). Так при замедлении кальциевого насоса СР F_m (амплитуда изометрического напряжения) составляла 89% от нормы, а t_{30} (время, затрачиваемое на расслабление до 30% от F_m) - 102% от нормы. При уменьшении кальциевого тока эти характеристики составляли 96% и 104% соответственно. Что же касается ускорения Na^+ - Ca^{2+} обмена, то оно почти полностью восстанавливало инотропную характеристику F_m (99% от нормы), но в большей степени замедляло расслабление (~ 110% от нормы).

Таким образом, ни в одном из случаев коррекция не была полной. Применение того или иного конкретного метода должно зависеть от того, какая из механических функций кардиомиоцитов – инотропная или лузитропная – в большей степени пострадала в конкретном патологическом случае. Следует также учитывать, что замедление кальциевого насоса СР, кроме всего прочего, является энергосберегающим воздействием. Поэтому оно может быть предпочтительным при нехватке энергоресурсов.

Полученные результаты наводят на мысль, что β -блокаторы являются наиболее эффективным средством для коррекции нарушений электрической и механической функции кардиомиоцитов в случае их кальциевой перегрузки, т.к. эти вещества одновременно уменьшают частоту сердцебиений, замедляют кальциевый ток и понижают активность кальциевой АТФазы СР. Мы имитировали совместный эффект двух последних факторов уменьшив всего на 11% одновременно

медленный кальциевый ток и скорость кальциевого насоса CP (вместо отдельного двадцатипроцентного уменьшения одной из этих величин) В этом случае также был восстановлен устойчивый нормальный ритм при значительной разгрузке CP от избыточного кальция (на 23% меньше, чем было в П-образце до воздействия) и при достаточно эффективном частичном восстановлении инотропной (94% от нормы) и лизитропной (105% от нормы) функций

Заметим, что передозировка сердечных гликозидов, которые в умеренных дозах восстанавливают инотропные характеристики миокарда при сердечной недостаточности, может чрезмерно повысить уровень кальция в клетках и поэтому может вызывать аритмии

Полученные результаты представляются нам важными для понимания механизмов аритмогенеза Большинство математических моделей, предназначенных для исследования аритмогенеза, описывают только электрические процессы, происходящие в сердце, не учитывая механическую функцию миокарда В рамках наших моделей мы исследовали влияние собственно механической функции кардиомиоцитов на процесс возбуждения миокарда в рамках адекватной молекулярной модели электрической и механической активности В частности, в исследованиях, проведенных с помощью предыдущей версии модели Екатеринбург-Оксфорд и опубликованных ранее (Katsnelson & Markhasin, *J Mol Cell Cardiol*, 1996, Solovyova et al., *Int J of Bifurcation & Chaos*, 2003), была установлена ключевая роль кооперативности $Xb-CaTnC$ в наблюдаемом экспериментально влиянии механических условий сокращения на ход кальциевой и электрической активации сердечной мышцы в норме В данной работе мы использовали новую версию модели Екатеринбург-Оксфорд для оценки возможной роли механических факторов и кооперативности $Xb-CaTnC$ при патологии Нами установлено, что в условиях кальциевой перегрузки кардиомиоцитов именно механические факторы и механическое взаимодействие могут приводить к нарушениям электрической и механической функции сердечной мышцы

По результатам работы сформулированы **выводы**

- 1 Построена новая версия математической модели электрической и механической функции миокарда Екатеринбург-Оксфорд (ЕО-2006), в которой усовершенствовано описание механического блока модели более реалистично описана кинетика образования и распада поперечных мостиков и в реоло-

гической схеме мышцы наряду с упругими элементами имеют вязкие элементы

2. Модель ЕО-2006 адекватно воспроизводит как нормальное поведение сердечной мышцы, так и нарушения ее электрической и механической функции (экстрасистолы, пульсус альтернанс, падение активной силы), наблюдаемые при патологии сердца, связанной с перегрузкой кардиомиоцитов кальцием
3. Установлено, что кооперативное влияние кинетики поперечных мостиков на кинетику кальций-тропониновых комплексов может служить триггером спонтанных потенциалов действия в условиях перегрузки клеток рабочего миокарда кальцием
4. При помощи модели показано, что нарушения электрической и механической активности кардиомиоцитов при их перегрузке кальцием являются механозависимыми уменьшение длины саркомеров кардиомиоцита и приложение малой постнагрузки в изотонических сокращениях, а также механическое взаимодействие кардиомиоцитов могут способствовать возникновению аритмии в кардиомиоцитах
5. Проанализированы различные пути активации и инактивации внутриклеточных механизмов, обеспечивающие кальциевую разгрузку кардиомиоцитов и восстановление электрической и механической функции миокарда. Найдено, что наилучший результат достигается с помощью одновременного замедления медленного кальциевого тока в клетку и кальциевого насоса СР.

Список публикаций по теме диссертации

Статьи в реферируемых журналах и сборниках

1. *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. №3 С 31-37. 2004
2. *Кацнельсон Л Б, Соловьева О Э, Сульман Т Б, Коновалов П В, Мархасин В С* Моделирование механо-электрического сопряжения в кардиомиоцитах в норме и при патологии //Биофизика Т 51, вып. 6, С 1044-1054. 2006
3. *Кацнельсон Л Б, Сульман Т Б, Соловьева О Э, Мархасин В С*

Математическое моделирование некоторых нарушений электромеханической функции кардиомиоцитов желудочка //Математика Компьютер Образование Сб. научных трудов Т2 / Под ред Г Ю Ризниченко - М-Ижевск: НИЦ "Регулярная и хаотическая динамика". С 345-369. 2006

- 4 *Katsnelson L B , Sulman T , Solovyova O , Markhasin V S* Mathematical Modeling of Electromechanical Function Disturbances and Recovery in Calcium-Overloaded Cardiomyocytes // F B Sachse and G Seemann (Eds) · FIMH 2007, LNCS 4466, P 383–392 2007.
5. *Кацнельсон Л Б , Сульман Т Б , Соловьева О Э , Мархасин В С* Механизмы нарушений электромеханической функции кардиомиоцитов при перегрузке кальцием Теоретическое исследование //РФЖ им Сеченова Т 93(9) С 969—981, 2007
- 6 *Sulman T , Katsnelson L B , Solovyova O , Markhasin V S* Mathematical Modeling of Mechanically Modulated Rhythm Disturbances in Homogeneous and Heterogeneous Myocardium with Attenuated Activity of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ Pump // Bulletin of Mathematical Biology V 70 №3, P. 910-949, 2008

Тезисы в материалах конференций

7. *Кацнельсон Л Б , Гурьев В Ю., Сульман Т Б* Одномерная математическая модель механоэлектрической активности миокарда // Российский физиологический журнал им И М Сеченова №8 С 457-458 2004
- 8 *Сульман Т Б* Математическое моделирование нарушений ритма и механического альтернанса в кардиомиоците при снижении активности натрий-калиевого насоса // Вятский медицинский вестник №1 С 53-54 2005
- 9 *Сульман Т Б* Математическое моделирование нарушений ритма в неоднородном миокарде при снижении активности натрий-калиевого насоса // Вестник молодых ученых Приложение к серии «Науки о жизни» Сборник материалов Всероссийской конференции молодых исследователей «Физиология и медицина» С 116 2005.
- 10 *Сульман Т Б , Кацнельсон Л Б , Соловьева О Э , Мархасин В С* Математическое моделирование нарушений электромеханической функции кардиомиоцита в условиях механического взаимодействия

- вия нормального и эктопического участков рабочего миокарда // Бюллетень сибирской медицины Т 4, Приложение 1, С 21-22 2005
- 11 *Sulman T, Katsnelson L B, Solovyova O, Markhasin V S.* Mathematical modeling of cardiomyocyte electromechanical function disturbances caused by the attenuation of sodium-potassium pump. // European Conference on Mathematical and Theoretical Biology, Books of abstracts 2 P 17, Dresden, Germany, July 18-22, 2005
 - 12 *Сульман ТБ, Кацнельсон ЛБ, Соловьева ОЭ, Мархасин ВС* Аритмии и методы их коррекции в кардиомиоцитах с ослабленным $\text{Na}^+\text{-K}^+$ насосом, изученные в математической модели электромеханической функции миокарда // Демидовские чтения на Урале, тезисы докладов С 281-282 2006
 13. *Sulman T B, Katsnelson L B, Solovyova O E, Markhasin V S* Mathematical modeling of rhythm disturbances and their suppression in the cardiomyocyte with $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump attenuation // Abstracts of International Symposium Biological Motility. Basic Research and Practice P 16-17 Pushchino, May 11-15, 2006.
 14. *Katsnelson L B, Sulman T, Solovyova O, Markhasin V S* Rhythm disturbances in cardiomyocytes with decreased $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump function. Contribution of Mechanical Factors assessed in a Mathematical Model // Математическая биология и биоинформатика Доклады I международной конференции С 63-64. 2006
 - 15 *Кацнельсон ЛБ, Сульман ТБ, Соловьева ОЭ, Мархасин ВС* Математическая модель острой сердечной недостаточности, связанной с перегрузкой кардиомиоцитов кальцием // Вестник уральской медицинской академической науки №3(2) С. 106-107 2006,
 - 16 *Sulman T, Katsnelson L B, Solovyova O, Markhasin V S* Mechano-electric feedback in rhythm disturbances in cardiomyocytes with moderately reduced activity of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump Model predictions on the arrhythmia and its suppression // 4th International workshop on Cardiac Mechano-Electric Feedback and Arrhythmias, Proceedings. P 74 Oxford, England, 1-4 April 2007
 17. *Katsnelson L, Sulman T, Solovyova O, Markhasin V* Myocardium Viscosity May Contribute To Arrhythmogenesis // Biophysical Journal, Supplement, 22a, Abstract, Biophysical Society Meeting Abstracts P 303a Long Beach, California, 2008.
 - 18 *Кацнельсон ЛБ, Сульман ТБ, Мархасин ВС* Острая недостаточ-

ность сократительной функции миокарда и аритмогенез при перегрузке кардиомиоцитов кальцием (математическое моделирование) // Четвертая всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии кровообращения Тезисы докладов С 39-40, Москва, 2008

- 19 *Katsnelson L B , Sulman T , Solovyova O , Markhasin V S* Contribution of mechanoelectrical feedback to disturbances of electromechanical activity of cardiomyocytes overloaded with Ca^{2+} Mathematical model // Abstracts of International Symposium Biological Motility Achievements and Perspectives V.1 P 5-8 Pushchino, May 11-15, 2008

Подписано в печать 21 05 2008 г. Формат 60×84/16
Усл. печ. л. 1,4 Тираж 120
Заказ № 174

Размножено с готовых оригинал-макетов в типографии
АНО «Уральский центр академического обслуживания»
620219, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 91