

*На правах рукописи*



Васильева Анастасия Дмитриевна

**МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАНСМУРАЛЬНЫХ  
ОСОБЕННОСТЕЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ И МЕХАНИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ  
МИОКАРДА ЖЕЛУДОЧКА**

03.01.02 – биофизика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Москва – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук» (ИИФ УрО РАН) и Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина» (УрФУ).

**Научный руководитель:**

**Соловьева Ольга Эдуардовна**, заведующая лабораторией математической физиологии ИИФ УрО РАН, заведующая лабораторией «Математическое моделирование в физиологии и медицине с использованием суперкомпьютерных технологий» УрФУ, доктор физико-математических наук, доцент.

**Официальные оппоненты:**

**Осипов Григорий Владимирович**, доктор физико-математических наук, заведующий кафедрой теории управления и динамики машин факультета вычислительной математики и кибернетики Нижегородского государственного университета им Н. И. Лобачевского.

**Сюняев Роман Альбертович**, кандидат физико-математических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии человека Московского физико-технического института (государственного университета), старший научный сотрудник отдела экспериментальной кардиологии НИИ кардиологии ФНКЦ ФМБА России.

**Ведущая организация:**

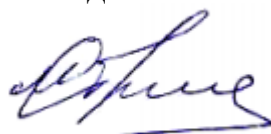
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт вычислительной математики Российской академии наук (ИВМ РАН).

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_ » мая 2015 года в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 501.001.96 Биологического факультета Московского Государственного университета им. М.В. Ломоносова по адресу: 119234, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.73, аудитория «Новая».

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова и на сайте <http://www.bio.msu.ru>.

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2015 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор биологических наук



М. Г. Страховская

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Миокардиальная гетерогенная система скоординирована в пространстве и во времени, обеспечивая сложную кинематику стенок камер сердца. Начиная с середины 20 века и до настоящего времени проводятся интенсивные исследования о неоднородности миокарда от органного до молекулярного уровня организации. В настоящее время неоднородность электрофизиологических свойств сердца на клеточном уровне достаточно подробно изучена на изолированных клетках и на молекулярно-генетическом уровне (Carmeliet et al., 2002), а макроскопическое влияние этой неоднородности на функцию интактного сердца исследуется и экспериментально, благодаря развитию электрофизиологических методов оптического картирования (Ripplinger et al., 2009), и методами математического моделирования (Benson et al., 2008; Trayanova et al., 2011). В отличие от широкого круга работ, описывающих неоднородность электрофизиологических свойств кардиомиоцитов, значительно меньше информации получено относительно неоднородности параметров электромеханического сопряжения и механических свойств кардиомиоцитов.

Особое значение в исследованиях по неоднородности миокардиальной ткани придается влиянию патологических условий на изменение трансмурального градиента электрофизиологических и механических свойств кардиомиоцитов в стенке камер сердца, особенно при действии аритмогенных факторов (Shimizu et al., 1999; Wan et al., 2005). При таких локальных изменениях свойств сердечной ткани патологически усиливается механическая и электрическая неоднородность всей сердечной ткани, вследствие чего возникают условия, которые могут способствовать появлению аритмии и аномальному изменению кинетики сегментов камер сердца (Markhasin et al, 2009).

Особое значение для выяснения возможных физиологических следствий молекулярно-клеточной неоднородности миокарда в норме и патологии имеют математические модели. И если в литературе описаны интегративные модели, учитывающие электрическую активность клеток из различных регионов стенки

желудочка, то до настоящего времени не существовало детальных математических моделей, учитывающих трансмуральные особенности механических свойств субэндокардиальных и субэпикардиальных клеток.

**Цель данной работы** – разработать математические модели электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах из субэндокардиального (ЭНДО) и субэпикардиального (ЭПИ) слоев стенки левого желудочка (ЛЖ), позволяющие воспроизвести и объяснить феномены, наблюдаемые в физиологических экспериментах, а также предсказать в рамках модели неоднородной миокардиальной ткани возможные следствия функциональной неоднородности кардиомиоцитов в нормальных и патологических условиях.

Исходя из поставленной цели, были сформулированы следующие **задачи**:

1. На основе экспериментальных данных разработать математические модели электромеханической активности ЭНДО и ЭПИ кардиомиоцитов, количественно описывающие особенности поведения кардиомиоцитов в различных механических условиях сокращения в норме.

2. Исследовать в рамках математической модели одномерного (1D) волокна особенности электромеханического поведения неоднородной сердечной ткани, включающей ЭНДО и ЭПИ кардиомиоциты.

3. Изучить при помощи разработанных моделей влияние ишемических последствий на электрическую функцию и сократительный ответ сердечных клеток из различных регионов стенки желудочка.

4. Выяснить молекулярно-клеточные механизмы возникновения нарушений ритма и ослабления механической активности кардиомиоцитов и изучить роль механических условий сокращения клеток в нарушении ритма при аномальном усилении функции натриевых каналов в ЭНДО и ЭПИ моделях.

**Научная новизна работы.** Впервые разработаны детальные математические модели, учитывающие особенности электромеханического сопряжения и механического поведения клеток из различных регионов стенки левого желудочка. Показано, что механизмы и прямой электромеханической, и обратной

механоэлектрической связей важны в формировании трансмурального градиента характеристик возбуждения и сокращения - расслабления кардиомиоцитов в стенке ЛЖ.

Впервые в рамках электромеханических ЭНДО и ЭПИ моделей проанализированы механизмы влияния ишемии. Впервые в рамках континуальной математической модели 1D волокна, включающего ЭНДО и ЭПИ кардиомиоциты, показано, что при острой ишемии механическое взаимодействие кардиомиоцитов в ткани может приводить к компенсационному эффекту, при котором механическая функция ткани нарушается менее по сравнению с функцией изолированных кардиомиоцитов.

В рамках математических моделей впервые проведен анализ молекулярно-клеточных процессов в кардиомиоцитах при действии аритмогенного фактора. Установлены механизмы, отвечающие за различие в уязвимости субэпикардальных и субэндокардиальных виртуальных кардиомиоцитов к аномальному усилению натриевого тока, вызывающего нарушение ритма. В рамках ЭПИ и ЭНДО моделей впервые установлена ключевая роль механических условий сокращения клеток в возникновении нарушения ритма при аномальном усилении функции натриевых каналов.

**Практическая значимость.** Использование математического моделирования в данной работе демонстрирует, что модели могут служить самостоятельным источником новых знаний и важным инструментом исследования физиологических явлений. Модели воспроизводят широкий круг явлений из области электрофизиологии и биомеханики миокарда. Важным для патофизиологии приложением работы является моделирование последствий острой ишемии и последствий одной из важных сторон развития острой сердечной недостаточности – внезапного падения силы сокращений и нарушения ритма.

Модели были использованы для выявления и анализа механизмов, лежащих в основе нарушений ритма при аномальном усилении натриевого тока, сопровождающем ряд генетических повреждений функции натриевых каналов.

Полученные результаты важны для понимания молекулярно-клеточных механизмов возникновения аритмий и возможных способов их коррекции. Также основные выводы и результаты работы могут быть использованы в учебном процессе при разработке соответствующих спецкурсов.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Разработанные математические модели воспроизводят не только нормальное поведение кардиомиоцитов из субэндокардиального и субэпикардиального регионов стенки левого желудочка сердца в различных механических условиях, но и нарушение их электрической и механической функции при действии ряда патологических факторов.

2. Направление волны возбуждения от ЭНДО к ЭПИ сегменту неоднородного волокна, а также динамическое изменение функции клеток благодаря их механическому и электрическому взаимодействию обеспечивают синхронизацию реполяризации миоцитов стенки желудочка и эффективность их сократительного ответа.

3. Ишемия приводит к увеличению градиента электрических и механических свойств кардиомиоцитов в стенке желудочка, что соответствует экспериментальным данным (Qi et al., 2000).

4. Механическое взаимодействие кардиомиоцитов в ткани может приводить к меньшему нарушению механической функции ткани по сравнению с изолированными клетками при острой ишемии.

5. Субэндокардиальные виртуальные кардиомиоциты более уязвимы к аномальному усилению функции натриевых каналов, которое приводит к нарушению ритма, по сравнению с субэпикардиальными кардиомиоцитами.

6. Субэпикардиальные виртуальные кардиомиоциты более уязвимы к изменению механической нагрузки при усилении функции натриевых каналов по сравнению с виртуальными субэндокардиальными кардиомиоцитами.

**Апробация работы.** Основные результаты и положения диссертации были представлены и обсуждены на конференциях: Всероссийской научной конференции

студентов-физиков ВНКСФ-17 (Екатеринбург, 2011), Международной конференции «Современные проблемы математики, информатики и биоинформатики», посвященная 100-летию со дня рождения члена-корреспондента АН СССР А.А. Ляпунова (Новосибирск, 2011), Biological Motility: Fundamental and Applied Science (Пушино, 2012), VIII Всероссийской школе-семинаре (Дивноморское, 2013), 58 съезде Биофизического общества «Biophysical Society» (Сан-Франциско, США, 2014), Biological Motility: New Facts and hypotheses (Пушино, 2014), Computing in Cardiology (Краков, Польша, 2012; Кэмбридж, США, 2014), European Muscle Conference (Амстердам, Нидерланды, 2013; Зальцбург, Австрия, 2014).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе 5 публикаций в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 1 учебного пособия и 10 тезисов докладов в материалах конференций.

**Объем и структура работы.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка цитируемой литературы, который включает в себя 125 источников (8 отечественных и 117 зарубежных). Диссертация изложена на 147 страницах, содержит 38 рисунков, 10 таблиц и приложение.

**Благодарности.** Автор с большим удовольствием благодарит своего научного руководителя д.ф.-м.н. О.Э. Соловьеву и сотрудников лаборатории математической физиологии ИИФ УрО РАН: Н.А. Викулову, Л.Б. Кацнельсона, П.В. Коновалова, А.Г. Курсанова и В.С. Мархасина.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Введение**

Во введении отражена актуальность темы исследования, поставлены цели и сформулированы задачи, дан краткий обзор содержания диссертации.

### **Глава 1. Обзор литературы**

В главе 1 дан аналитический обзор литературы, рассмотрены имеющиеся экспериментальные и клинико-физиологические данные, показывающие, что миокард существенно неоднороден по механическим, электрическим и биохимическим свойствам на всех уровнях организации: от молекулярного до

тканевого. Приведены литературные данные, показывающие, что характер и степень выраженности неоднородности миокарда существенно изменяются при патологии. Также представлен краткий обзор существующих математических моделей для исследования функциональной неоднородности миокарда.

## **Глава 2. Объекты и методы исследования**

В главе 2 описаны объекты и методы исследования. В основе интегративных математических моделей, описывающих поведение *кардиомиоцитов* из субэндокардиального слоя (ЭНДО модель) и субэпикардиального слоя (ЭПИ модель) миокарда ЛЖ морской свинки лежит математическая модель электрической и механической активности сердечной мышцы (Solovyova et al., 2003; Sulman et al., 2008), разработанная в лаборатории математической физиологии ИИФ УрО РАН совместно с Оксфордским университетом и известная в литературе под названием «Екатеринбург-Оксфорд» (ЕО-модель). ЕО-модель адекватно описывает широкий круг явлений в сердечной мышце, поэтому она была использована в данной работе в качестве базового объекта для проведения модификаций и дальнейшего исследования. В основе ЕО-модели клетки сердечной мышцы лежат три крупных блока. Электрофизиологический блок представлен математическим описанием электрической активности кардиомиоцита, разработанным в лаборатории физиологии Оксфордского университета (под руководством профессора D.Noble) (Noble et al., 1998). Блоки кальциевой кинетики и механического поведения сердечных мышц является собственной разработкой лаборатории математической физиологии ИИФ УрО РАН (Мархасин и др., 1999; Solovyova et al, 2003; Katsnelson et al., 2004). Специальное внимание уделено подробному описанию генерации напряжения и активной деформации кардиомиоцитов на основе описания кинетики поперечных мостиков миофиламентов кардиомиоцитов и кооперативных механизмов образования кальций-тропониновых комплексов на тонких нитях саркомера. Показано, что одним из главных механизмов механоэлектрической обратной связи как в одиночном кардиомиоците, так и в многоклеточной структуре является кооперативность связывания кальция регуляторными белками



миофиламентов, которая обеспечивает влияние механических условий сокращения сердечных мышц на электрические явления в кардиомиоцитах (Solovyova et al, 2003; 2004). Объединенная математическая модель представляет собой систему из 31 обыкновенного дифференциального уравнения с соответствующим образом выбранными начальными условиями.

В главе 2 также приведено описание континуальной 1D модели *волокна*, в которой клетки рассматриваются как точки одномерной сплошной среды, взаимодействующие между собой как электрически, так и механически (Katsnelson et al., 2014). На основе данной модели в диссертационной работе было исследовано электромеханическое поведение неоднородной сердечной ткани, включающей ЭНДО и ЭПИ кардиомиоциты.

Также в главе 2 описаны специальные математические методы для количественной оценки влияния различных клеточных механизмов на электрическую функцию возбудимых клеток вследствие изменения внешних или внутренних факторов. При участии автора был разработан подход для оценки вклада тех или иных механизмов в изменение конфигурации потенциала действия клеток, вызванное изменением параметров функционирования системы на основе методов «интегралов от разности токов (Solovyova et al, 2003) и «ведущего потенциала» (Cha et al, 2009). Далее в работе данный подход использовался для оценки влияния клеточных механизмов на генерацию потенциала действия при действии аритмогенного фактора и в зависимости от механических условий сокращения виртуальных ЭНДО и ЭПИ кардиомиоцитов.

### **Глава 3. Математические модели трансмуральной неоднородности миокарда**

В главе 3 на основе базовой ЕО-модели разработаны *ЭНДО и ЭПИ модели электромеханического сопряжения в кардиомиоцитах из субэндокардиального и субэпикардиального слоев стенки левого желудочка*. В рамках описанной в главе 2 континуальной математической модели волокна построена модель неоднородного 1D волокна, включающего ЭПИ и ЭНДО виртуальные кардиомиоциты. В конце

главы представлены результаты численных экспериментов на разработанных моделях и проведено их сравнение с экспериментальными данными.

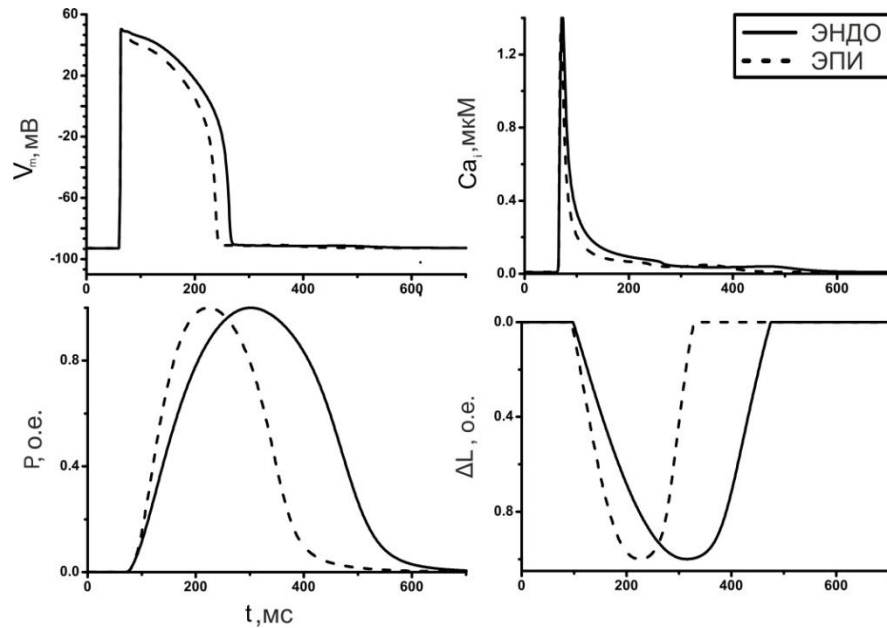
Основные отличия функциональных свойств ЭПИ и ЭНДО кардиомиоцитов, установленные экспериментально, проявляются в морфологии и длительности потенциала действия (ПД), а также скоростных характеристиках кинетики внутриклеточного кальция и сокращения клеток (Cazorla et al., 1997; Bryant et al., 1998; Sakmann et al., 2000; Laurita et al., 2003; Wan et al., 2003; Ait Mou et al., 2008; Wan et al., 2005). Чтобы воспроизвести в моделях эти трансмуральные отличия кардиомиоцитов мы изменили ряд параметров электрического и механического блоков базовой ЕО-модели на основе соответствующих экспериментальных данных.

В частности, мы воспроизвели трансмуральные особенности задержанного выпрямленного калиевого тока (delayed rectifier current) (Bryant et al., 1998), персистирующего натриевого тока (persistent sodium current) (Sakmann et al., 2000) и кальциевого тока через L-каналы (L-type calcium current) (Wan et al., 2005) в кардиомиоцитах ЛЖ морской свинки. Однако учет только различий электрофизиологических параметров модели оказался недостаточным для воспроизведения трансмурального градиента и электрических, и механических свойств изолированных кардиомиоцитов из различных слоев ЛЖ. В частности, не удалось даже количественно воспроизвести заметного уменьшения длительности ПД в субэпикардальных клетках по сравнению с субэндокардиальными. Поэтому параметры механического блока и кальциевой кинетики ЕО-модели также были модифицированы с учетом целого ряда экспериментальных данных, полученных в последние годы разными исследователями.

Известно, что плотность белков кальциевого насоса саркоплазматического ретикулума (СР) выше в субэпикардальных кардиомиоцитах (Laurita et al., 2003). В соответствии с этим в ЭНДО модели мы уменьшили максимальную скорость работы насоса. На скинированных кардиомиоцитах ЛЖ морской свинки показано, что константа скорости восстановления силы после быстрого отпускания выше в субэпикардальных клетках по сравнению с субэндокардиальными (Ait Mou et al.,

2008), что позволяет предположить более высокую константу скорости циклирования поперечных мостиков в субэпикардальном слое ЛЖ (за счет преобладания изоформы миозина  $v_1$ ). Учтя этот факт и другие экспериментальные свидетельства о трансмуральных различиях в кардиомиоцитах морской свинки (Wan et al., 2003; Bryant et al., 1997), мы изменили несколько параметров механического блока модели для ЭНДО и ЭПИ моделей, чтобы воспроизвести отличия в скоростях сокращения-расслабления клеток из разных слоев стенки ЛЖ. Во-первых, следуя экспериментальным данным (Bryant et al., 1998; Wan et al., 2003), мы увеличили в ЭПИ модели параметр, определяющий максимальную скорость ненагруженного укорочения саркомеров, и параметр, определяющий сумму констант скоростей прикрепления и открепления поперечных мостиков в стационарных условиях, а также увеличили параметр, определяющий вероятность нахождения миозиновой головкой активного центра на актиновой нити модели.

В экспериментальных исследованиях было показано, что субэндокардиальные клетки демонстрируют большую длинозависимость и молекулярную кооперативность процессов силогенерации (Ait Mou et al., 2008). Опираясь на эти данные, мы уменьшили в ЭПИ модели кооперативное влияние кальций-тропониновых комплексов на кинетику распада аналогичных соседних комплексов, а также кооперативное взаимодействие типа «конец-в-конец» участков тропомиозиновой нити, соответствующих функциональным группам вдоль нити актина. Также мы воспроизвели экспериментальные данные по связи «длина саркомера - пассивное напряжение» в кардиомиоцитах морской свинки, полученной в работе авторами Казорла и др. (Cazorla et al., 1997). Авторами было высказано предположение, что различия в пассивных характеристиках кардиомиоцитов могут быть связаны с молекулами тайтина, который проходит через молекулы миозина и крепится к Z пластинкам саркомера, для которого в кардиомиоцитах найдено две изоформы – жесткая и более податливая (Cazorla et al., 2000). Поэтому, возможно, что трансмуральные различия в пассивной жесткости кардиомиоцитов обусловлены именно трансмуральными различиями в распределении изоформ тайтина.



**Рис 1.** Результаты численных экспериментов в рамках ЭНДО и ЭПИ моделей с модифицированными электрическими и механическими параметрами. Левая верхняя панель: временной ход мембранного потенциала  $V_m$ ; правая верхняя панель: изменение концентрации внутриклеточного кальция  $Ca_i$ ; левая нижняя панель: генерация изометрического напряжения  $P$ , нормированного на максимальную величину напряжения; правая нижняя панель: изотоническое укорочение виртуального кардиомиоцита  $\Delta L$  (под нагрузкой, равной 10% от величины пика изометрической силы), нормированное на максимальную величину укорочения.

Таким образом, длительность ПД оказалась больше в ЭНДО модели по сравнению с ЭПИ моделью. Скорости малонагруженного укорочения кардиомиоцитов, а также фазы генерации напряжения и расслабления в изометрическом режиме в ЭНДО модели меньше, чем в ЭПИ (рис. 1). За счет механоэлектрической обратной связи различия в механических параметрах моделей обеспечили не только требуемое замедление сокращения-расслабления кардиомиоцитов и особенности кальциевого перехода, но и заметное увеличение длительности ПД в ЭНДО виртуальных кардиомиоцитах ЛЖ морской свинки по сравнению с ее ЭПИ клетками. Тем не менее, сопоставление контрольных ЭПИ и ЭНДО моделей с экспериментальными данными по электромеханическому поведению изолированных кардиомиоцитов ЛЖ морской свинки (Bryant et al., 1997; Wan et al. 2003) показало, что модели демонстрируют менее выраженный градиент электрической функции ЭПИ и ЭНДО клеток при более выраженном различии

механических характеристик по сравнению с экспериментальными данными. Далее мы попытались включить в рассмотрение дополнительные механизмы, которые могут определять различия в электрических свойствах клеток из различных слоев. В рамках моделей мы проверили две экспериментальные гипотезы, которые могут объяснить большие трансмуральные различия в наблюдаемом в экспериментах градиенте времени завершения реполяризации:

- 1). Существует градиент натрий-калиевого тока  $I_{NaK}$  благодаря различной экспрессии белков  $Na^+/K^+$  насоса в клетках субэпикарда и субэндокарда, который вносит вклад в трансмуральный градиент длительности ПД (Wang et al., 2010). Для проверки этой гипотезы мы последовательно изменяли  $I_{NaK}$  при помощи изменения максимальной амплитуды тока (увеличения/уменьшения) через  $Na^+/K^+$  насос в ЭПИ и ЭНДО моделях.
- 2). Существует трансмуральный градиент в натрий-кальциевом токе  $I_{NaCa}$  благодаря различной экспрессии белков  $Na^+/Ca^{2+}$  обменника (Xu et al., 2012; Quinn et al., 2003), который приводит к различию в длительности ПД в ЭПИ и ЭНДО клетках. Для проверки данной гипотезы мы последовательно изменяли амплитуду  $I_{NaCa}$  в ЭПИ и ЭНДО моделях посредством изменения параметра (увеличения/уменьшения), определяющего амплитуду тока.

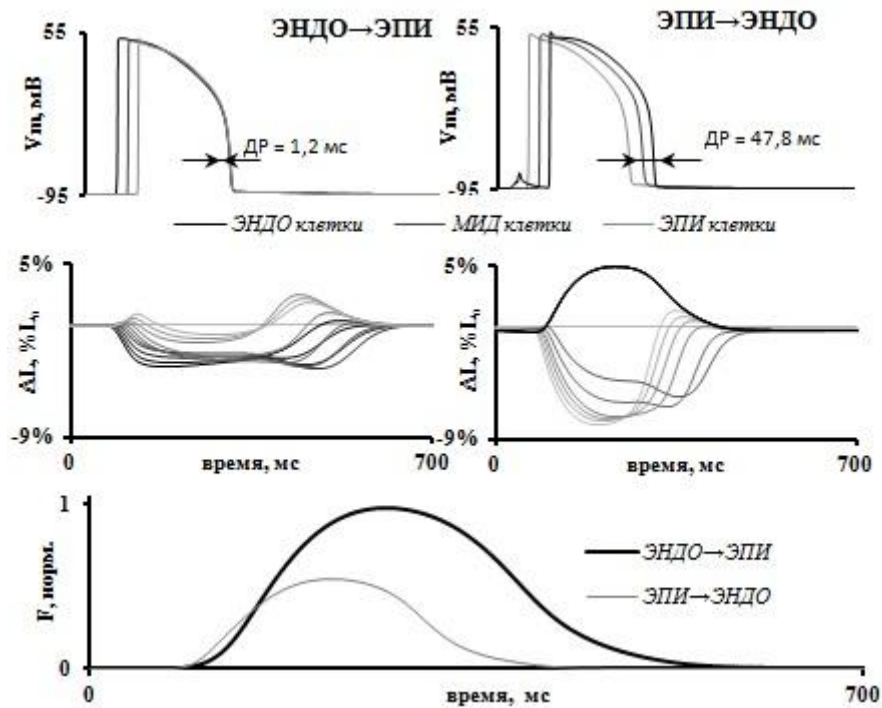
Численные эксперименты показали, что первая гипотеза наиболее адекватно описывает электромеханическую активность кардиомиоцитов из различных слоев ЛЖ морской свинки. Увеличение амплитуды  $I_{NaK}$  в модифицированной ЭНДО модели привело к уменьшению амплитуды обратной фазы (reverse mode)  $I_{NaCa}$  по сравнению с контрольной ЭНДО моделью. В эту фазу ток  $I_{NaCa}$  реполярирующий, следовательно, уменьшение амплитуды тока, реполяризирующего клеточную мембрану, приводит к увеличению длительности ПД в модифицированной ЭНДО модели. А это в свою очередь привело к более выраженному различию реполяризации между ЭПИ моделью и модифицированной ЭНДО моделью. Таким образом, в рамках моделей подтверждается, что различная экспрессия белков  $Na^+/K^+$

насоса в клетках субэпикарда и субэндокарда может создавать трансмуральный градиент времени реполяризации в ЭНДО и ЭПИ кардиомиоцитах.

Для исследования особенностей поведения сердечной ткани, обладающей трансмуральным градиентом электрофизиологических и механических свойств кардиомиоцитов, была разработана *континуальная 1D модель неоднородного волокна*, в котором параметры ЭНДО сегмента описывались параметрами одиночных ЭНДО клеток, а параметры ЭПИ сегмента – параметрами одиночных ЭПИ клеток. Параметры клеток МИД (промежуточного) сегмента мышечной полоски линейным образом менялись от параметров ЭНДО к параметрам ЭПИ клеток. Протяжённость каждого сегмента составила 1/3 от общей длины волокна соответственно. В работе рассматривалось поведение волокна сердечной мышцы в изометрических условиях. Длина покоя составляла 20 мм, при растяжении под преднагрузкой – 25.3 мм, соответствующая начальной длине саркомеров, равной 2.1 мкм. Длина каждого сегмента составила 1/3 от общей длины волокна соответственно. Волна возбуждения запускалась электрической стимуляцией одной из граничных сегментов волокна и распространялась со скоростью  $\approx 0.6$  м/с (коэффициент электродиффузии  $D = 300$  мм<sup>2</sup>/с) либо в направлении от ЭНДО к ЭПИ сегменту (ЭНДО  $\rightarrow$  ЭПИ), что соответствует последовательности возбуждения миокарда ЛЖ в нормальных условиях (Taggart et al., 2003), либо в противоположном направлении (активации ЭПИ $\rightarrow$ ЭНДО), что имитирует аномальную последовательность активации.

Результаты, полученные в рамках 1D модели неоднородного миокарда, подтверждают, что последовательность возбуждения в неоднородном миокарде является ключевым фактором оптимизации его электрической и механической функции. Направление волны возбуждения ЭНДО $\rightarrow$ ЭПИ (что соответствует последовательности возбуждения миокарда ЛЖ в нормальных условиях), а также динамическое изменение электромеханических свойств клеток, вызванное их механическим и электрическим взаимодействием, обеспечивают синхронизацию реполяризации миоцитов стенки желудочка, а также увеличивают эффективность их

сократительного ответа. Аномальное направление активации ЭПИ→ЭНДО приводит к существенному нарушению и электрической функции, с появлением задержанных постдеполяризаций, и механической функции миокарда, с значительным падением амплитуды изометрической силы, генерируемой волокном (рис. 2).



**Рис 2.** Сравнение электромеханического поведения неоднородного волокна в моделях, в которых имитируется распространение возбуждения ЭНДО→ЭПИ и ЭПИ→ЭНДО моделях. Сверху вниз: мембранный потенциал  $V_m$  в репрезентативных клетках каждого типа, деформация клеток  $\Delta L$ , в % относительно начальной длины волокна  $L_0$ , изометрическая сила волокна  $F$ , нормированная к значению силы одиночных ЭПИ и ЭНДО клеток.

#### **Глава 4. Моделирование трансмуральных особенностей функции миокарда желудочка в патологических условиях**

В главе 4 приведены результаты численных экспериментов на ЭПИ и ЭНДО моделях по анализу неоднородности параметров электромеханического сопряжения в патологических условиях и ее роли в возникновении нарушений ритма. В рамках моделей при помощи методов количественного анализа установлены механизмы, отвечающих за различие в уязвимости субэпикардиальных и субэндокардиальных виртуальных кардиомиоцитов к аритмогенным воздействиям.

При помощи разработанных математических моделей было показано, что субэндокардиальные и субэпикардиальные клетки по-разному реагируют на патологические условия. Так, острая ишемия приводит к увеличению градиента электрических и механических свойств кардиомиоцитов в стенке желудочка (рис. 3; рис. 4).

Для моделирования последствий острой ишемии в моделях мы использовали экспериментальные данные об изменении в миокарде уровня концентрации АТФ  $[ATP]_i$  и концентрации калия во внеклеточном пространстве  $[K]_o$  в течение первых 15 минут острой ишемии (Weiss et al., 1991; Weiss et al., 1992).

Изменения  $[ATP]_i$  и  $[K]_o$  вызывают увеличение активности АТФ-зависимого  $K^+$  мембранного тока  $I_{K(ATP)}$ . Мы использовали описание этого тока в формулировке, адаптированной из работы (Shaw et al., 1997):

$$I_{K(ATP)} = g_{K(ATP)} \cdot P_{ATP} \cdot \left(\frac{[K]_o}{4.0}\right)^n \cdot (V_m - E_K), \quad (1)$$

где  $g_{K(ATP)}$  – максимальная проводимость канала на единицу площади мембраны при  $[ATP]_i = 0$  мМ, параметр моделей;  $P_{ATP}$  – доля открытых АТФ-зависимых калиевых каналов при данной концентрации АТФ (формула 2);  $[K]_o$  – концентрация ионов калия во внеклеточном пространстве;  $V_m$  – трансмембранный потенциал;  $E_K$  – равновесный калиевый потенциал.

Выражение для  $P_{ATP}$  записывается следующим выражением, определяющим нелинейную зависимость от  $[ATP]_i$  Хилловского типа:

$$P_{ATP} = \frac{1}{\left(1 + \frac{[ATP]_i}{k_{0.5}}\right)^h}, \quad (2)$$

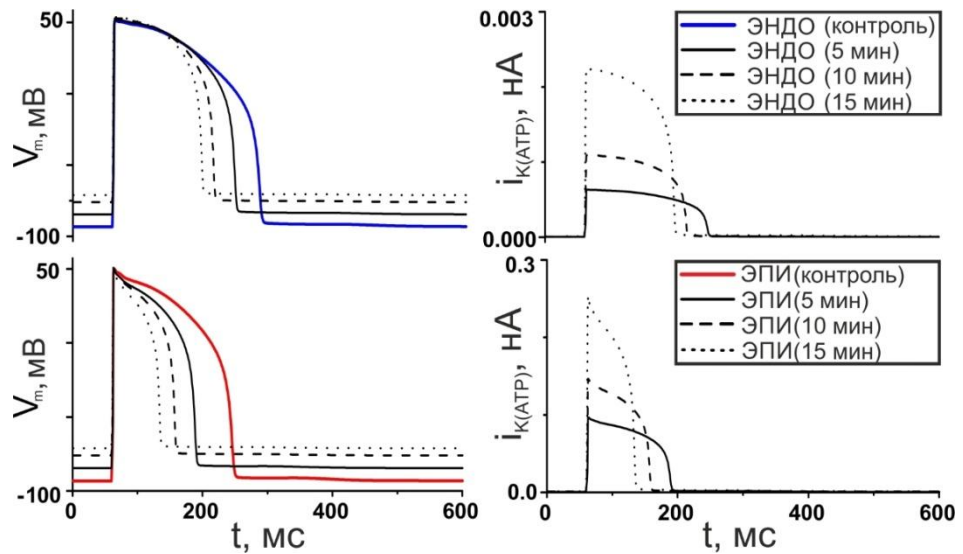
где  $k_{0.5}$  – внутриклеточная концентрация АТФ, при которой 50 % каналов находятся в открытом состоянии;  $h$  – коэффициент Хилла, характеризующий крутизну зависимости доли открытых каналов от внутриклеточной концентрации АТФ.

Мы использовали выражение (2) для того, чтобы аппроксимировать экспериментальные данные, полученными авторами Фурукава и др. (Furukawa et al., 1991) о зависимости  $P_{ATP}$  от  $[ATP]_i$  в субэпикардиальных и субэндокардиальных клетках. В ЭПИ модели коэффициент Хилла  $h$  для сигмоидальной зависимости



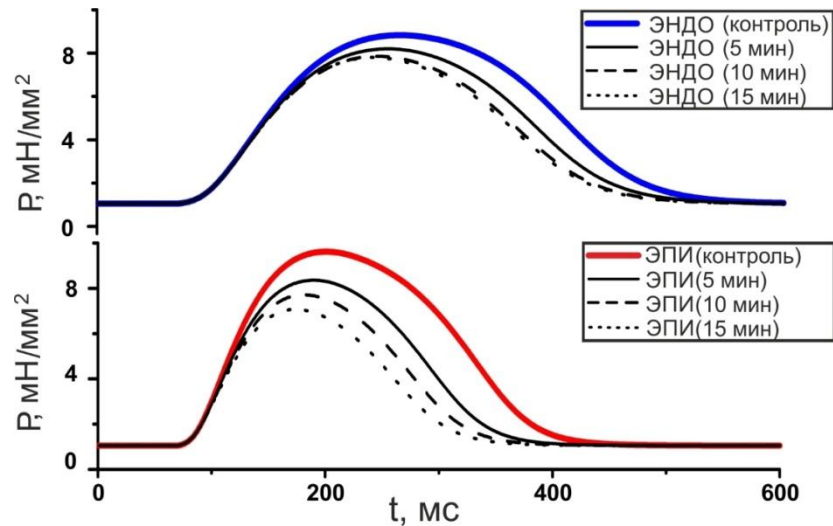
оказался равным 1.59,  $k_{0.5} = 97.60$  мМ, в ЭНДО клетке - соответственно  $h = 2.09$  и  $k_{0.5} = 23.58$  мМ.

Благодаря большей чувствительности вероятности открытия АТФ-зависимых калиевых каналов  $P_{\text{АТР}}$  к изменению  $[\text{АТР}]_i$  в ЭПИ виртуальной клетке, амплитуда АТФ-зависимого наружу направленного калиевого тока  $I_{\text{K(АТР)}}$  в ЭПИ модели больше, чем в ЭНДО модели (рис. 3, правая панель), что обусловило большее укорочение ПД (рис. 3, левая панель) в субэпикарде в условиях ишемии.



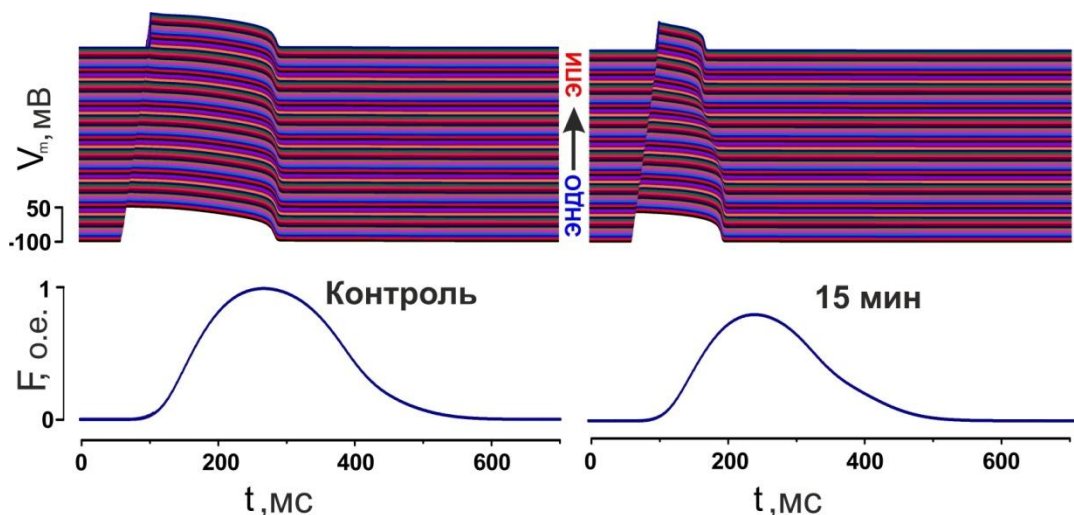
**Рис. 3.** Изменение во времени трансмембранного потенциала -  $V_m$  (левая панель) и калиевого тока через АТФ-зависимые калиевые каналы -  $I_{\text{K(ATP)}}$  (правая панель) в ЭНДО и ЭПИ моделях в контрольных условиях и при 5, 10 и 15 минутах ишемии.

Благодаря большему укорочению ПД в ЭПИ модели, амплитуда кальциевого перехода падает сильнее в субэпикарде с развитием ишемии в клетках, что приводит к большему изменению временных и амплитудных характеристик изометрического напряжения в ЭПИ клетке. Так, ЭПИ виртуальная клетка имеет тенденцию к быстрой потере сократительной функции, на 15 минуте ишемии амплитуда изометрического напряжения уменьшилась в ЭПИ клетке на 27 % , в то время как в ЭНДО клетке - на 12 % (рис. 4).



**Рис. 4.** Изменение во времени изометрического напряжения -  $P$  в ЭНДО и ЭПИ моделях в контрольных условиях и при 5, 10 и 15 минутах ишемии.

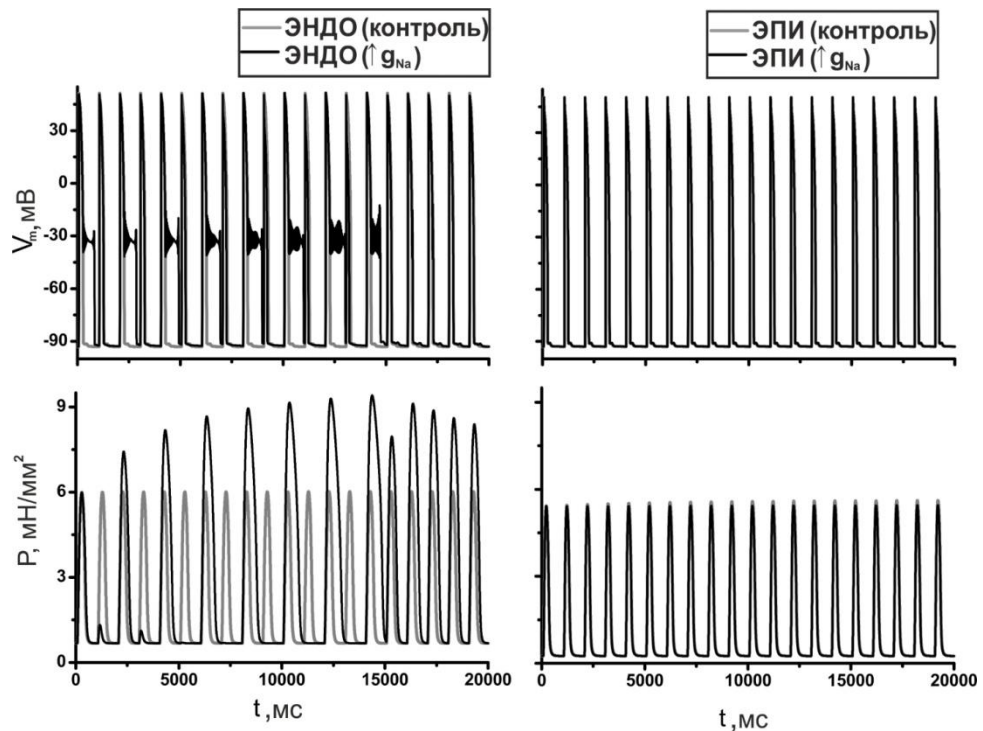
Влияние острой ишемии на неоднородное волокно, включающее кардиомиоциты из различных слоев, проявляется в увеличении дисперсии реполяризации (рис. 5), что, как известно, может привести к появлению аритмий. Результаты моделирования предсказывают, что увеличение трансмурального градиента электрических свойств в ишемизированной ткани не привело к аналогичному увеличению градиента механических свойств клеток благодаря их механическому взаимодействию.



**Рис. 5.** Влияние острой ишемии на электрическую и механическую функцию волокна в 1D модели. Верхняя панель: мембранный потенциал  $V_m$  в клетках различных слоев вдоль волокна (возбуждение распространяется от ЭНДО  $\rightarrow$  ЭПИ). Нижняя панель: изометрическая сила  $F$ , развиваемая волокном, нормированная на максимальное значение.

Авторами Морено и др. (Moreno et al., 2012) показано, что мутация натриевых каналов, которые могут дестабилизировать активацию и инактивацию ворот каналов так, что каналы могут открываться во время фазы плато ПД, может приводить к нарушению метаболизма в клетках и развитию ишемического процесса, что в дальнейшем может приводить к нарушению ритма.

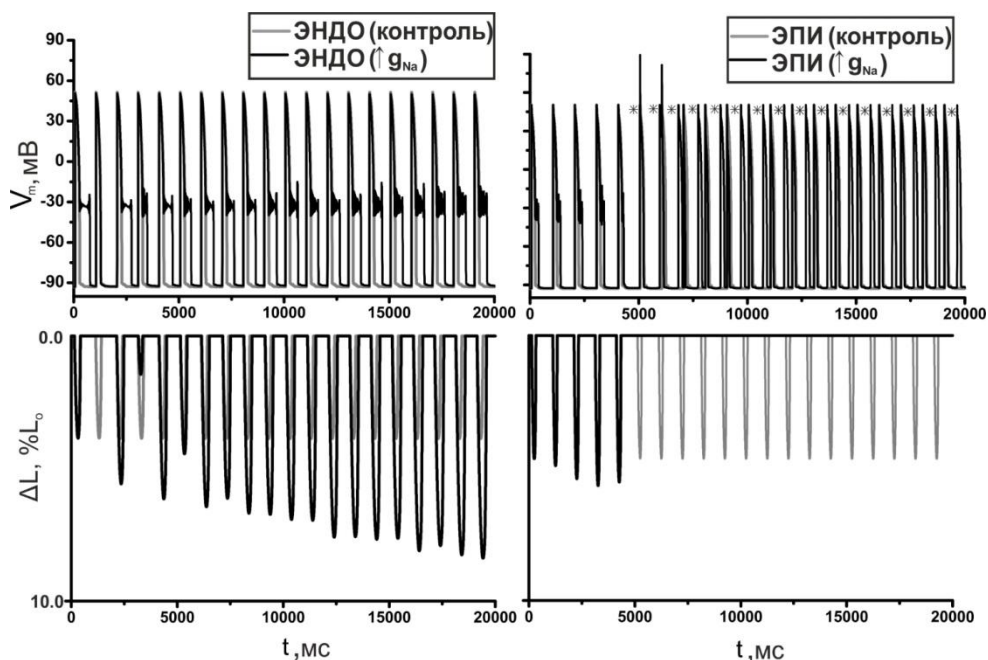
В рамках диссертационной работы на клеточном уровне *моделировалось нарушение электромеханической активности миокарда, вызванное аномальным усилением общей функции натриевых каналов* (как в раннюю фазу деполяризации, так и в фазу плато ПД) посредством увеличения максимальной проводимости  $g_{Na}$  натриевого тока  $I_{Na}$ . Особое внимание было уделено изучению роли механических условий сокращения виртуальных ЭНДО и ЭПИ кардиомиоцитов в возникновении нарушений ритма и сократительной функции клеток при аномальном усилении функции натриевых каналов.



**Рис. 6.** Нарушение функции ЭНДО и ЭПИ клеток при аномальном увеличении максимальной проводимости натриевых каналов. Сверху вниз: изменение мембранного потенциала  $V_m$  и изометрического напряжения  $P$  во времени в контрольных моделях (обозначено серым цветом) и моделях при  $g_{Na} = 40$  мкСм (обозначено черным цветом). Частота стимуляции 1Гц.

В изометрическом режиме сокращения клетки нарушения ритма в виде ранних задержанных постдеполяризаций (РПД) возникали в ЭНДО модели, но не в ЭПИ модели при значениях  $g_{Na} = 40$  мкСм (рис. 6). В изотоническом режиме сокращения при больших значениях постнагрузки (80 % от максимального изометрического напряжения) поведение ЭНДО и ЭПИ моделей при аномальном усилении функции натриевых каналов аналогично реакции моделей на аритмогенный фактор в изометрическом режиме сокращений.

При  $g_{Na} = 40$  мкСм поведение ЭНДО модели в изотоническом режиме сокращений при средних и малых значениях постнагрузки (50 % и 10 % от максимального изометрического напряжения) аналогично рассмотренным выше случаям – изометрическому режиму сокращений и изотоническому режиму сокращений с большой постнагрузкой (рис. 7, левая панель). Однако в ЭПИ модели при данных условиях были обнаружены внеочередные импульсы причем с момента появления внеочередных ПД клетка не сокращалась весь рассмотренный промежуток времени (рис. 7, правая панель).



**Рис. 7.** Сверху вниз: изменение мембранного потенциала  $V_m$  и укорочения клетки  $\Delta L$  (в % от  $L_0$ ) во времени в контрольных моделях (обозначено серым цветом) и моделях при аномальном увеличении максимальной проводимости натриевых каналов  $g_{Na} = 40$  мкСм (обозначено черным цветом) в изотоническом режиме сокращений при постнагрузке  $0.5 F_0$ . Частота стимуляции 1Гц. Знаком \* обозначены внеочередные импульсы.

Для анализа внутриклеточных механизмов нарушения ритма в рамках ЭПИ и ЭНДО моделей были использованы специальные математические методы анализа моделей. Результаты численных экспериментов показали, что в изометрическом режиме сокращения клеток избыток положительного заряда ионов  $\text{Na}^+$  внутри ЭНДО клетки приводит к РПД, в то время как в ЭПИ клетке при  $g_{\text{Na}} = 40$  мкСм большая экспрессия калиевых каналов по сравнению с ЭНДО клеткой компенсируют накопление положительного заряда в клетке. Калиевые токи выносят положительный заряд из ЭПИ клетки в фазу реполяризации ПД, тем самым восстанавливая исходную отрицательную разность потенциалов на мембране. Тем не менее дальнейшее увеличение  $g_{\text{Na}}$  приводит к аналогичному появлению РПД и в субэпикардальных виртуальных клетках.

Увеличение максимальной проводимости натриевых каналов  $g_{\text{Na}}$  при средних и малых постнагрузках сокращения ЭПИ клеток приводит к увеличению концентрации  $[\text{Na}]_i$  в цитозоле и накоплению ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , что постепенно приводит к перегрузке кальцием терминальных цистерн СР и спонтанному высвобождению  $\text{Ca}^{2+}$  из цистерн между стимулами. Так как уровень спонтанно высвободившегося  $\text{Ca}^{2+}$  оказывается достаточно высоким, это высвобождение запускает дополнительный ПД (посредством  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$  обменного тока – в режиме «forward mode»), однако не достаточно высоким, чтобы инициировать внеочередное сокращение клетки. В рамках модели было показано, что уменьшение скорости СР насоса постепенно приводит к устранению в ЭПИ модели экстрасистолической активности, вызванные увеличением  $g_{\text{Na}}$ . Таким образом, можно предположить, что за счет более низкой скорости работы насоса СР в ЭНДО клетке субэндокардиальные виртуальные кардиомиоциты "защищены" от экстрасистолической активности вследствие действия выбранного в работе аритмогенного фактора. Полученные результаты важны для понимания молекулярно-клеточных механизмов возникновения аритмий и возможных способов их коррекции.

## **Заключение**

В заключении обобщены результаты исследования и сформулированы следующие **выводы**:

1. Разработаны детальные математические модели электрической и механической функции кардиомиоцитов из субэндокардиального и субэпикардиального регионов стенки левого желудочка сердца (ЭНДО и ЭПИ модели) и 1D модель неоднородного волокна миокардиальной ткани в норме и патологии сердца, связанной с острой ишемией и аритмией при аномальном усилении натриевого тока.

2. Впервые показано, что механизмы обратной механоэлектрической связей вносят вклад в формировании трансмурального градиента характеристик возбуждения и сокращения - расслабления кардиомиоцитов в стенке ЛЖ.

3. На континуальной модели полосы мышечной ткани ЛЖ, включающей ЭНДО и ЭПИ модели одиночных клеток, показано, что последовательность активации клеток в неоднородном миокарде является ключевым фактором оптимизации его электрической и механической функции.

4. Результаты моделирования подтверждают, что ишемия может вызывать увеличение дисперсии реполяризации на клеточном и тканевом уровнях организации миокарда.

5. При помощи моделей показаны существенные различия в уязвимости субэндокардиальных и субэпикардиальных кардиомиоцитов к аномальному усилению функции натриевых каналов в зависимости от механической нагрузки на клетку.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:**

### **Статьи в журналах, включенных в перечень ВАК:**

1. **Васильева А.Д., Соловьева О.Э.** Анализ вклада внутриклеточных механизмов в изменение генерации потенциала действия в моделях возбудимых клеток. // Математическая биология и биоинформатика. Т. 6. № 2. С. 200-210. 2011.

2. **Васильева А.Д.**, Соловьева О.Э. Электромеханическое сопряжение в кардиомиоцитах трансмуральных слоев левого желудочка морской свинки // Биофизика Т. 50. № 5. С. 852-859. 2012.
3. **A. Vasilyeva**, O. Solovyova. Modeling of heterogeneity in electrical and mechanical function of guinea pig ventricular myocytes // Computing in Cardiology. V.39, P. 453-456. 2012.
4. Викулова Н.А., **Васильева А.Д.**, Замараев Д.Э., Соловьёва О.Э., Мархасин В.С. Моделирование нарушений электрической и механической функции клеток сердечной мышцы при острой ишемии // Биофизика. Т. 59(5), с. 973-982. 2014.
5. **Vasilyeva A.**, Vikulova N., Solovyova O., Markhasin V.S. Effects of Acute Myocardial Ischemia in Mathematical Models of Heterogeneous Myocardium // Computing in Cardiology. - V. 41 - p. 881-884. 2014.

**Учебное пособие:**

1. О.Э. Соловьева, В.С. Мархасин, Л.Б. Кацнельсон, Т.Б. Сульман, **А.Д. Васильева**, А.Г. Курсанов. Математическое моделирование живых систем: [учеб. пособие]; под общ. ред. О. Э. Соловьевой ; Министерство образования и науки Российской Федерации, Уральский Федеральный Университет. — Екатеринбург : Издательство Уральского университета, 2013. — 328 с.

**Тезисы конференций:**

1. **Васильева А.Д.**, Соловьева О.Э. Анализ причин нарушения генерации потенциала действия в моделях возбудимых клеток. // Всероссийская научная конференция студентов-физиков. Тезисы конференции. С. 380-381. 2011.
2. **Васильева А.Д.**, Соловьева О.Э. Качественная оценка причин изменения электрической активности в моделях возбудимых клеток // Международная конференция "Современные проблемы математики, информатики и биоинформатики", посвященная 100-летию со дня рождения члена-корреспондента АН СССР А.А. Ляпунова. Сборник тезисов. С. 73. 2011.

3. **Vasilyeva A.D.**, Solovyova O.E. Modeling transmural electrical and mechanical properties of cardiomyocytes from guinea pig left ventricle. // *Biological Motility: Fundamental and Applied Science*. Сборник тезисов. С. 240-241.2012.
4. **Vasilyeva A.D.**, Solovyova O.E. Modeling of Heterogeneity in Electrical and Mechanical Function of Guinea Pig Ventricular Myocytes. // *Conference Computing in Cardiology*. P.122. 2012.
5. **Васильева А.Д.**, Викулова Н.А., Кацнельсон Л.Б., Соловьева, О.Э. Моделирование трансмуральных особенностей пространственно-временной структуры и функции стенки левого желудочка. // *Тезисы докладов VIII Всероссийской школы-семинара*. Том 1. С. 34. 2013.
6. **Васильева А.Д.**, Викулова Н.А., Соловьева О.Э., Мархасин В.С. Моделирование трансмуральных различий функции кардиомиоцитов левого желудочка в норме и при острой ишемии. // *Тезисы докладов VIII Всероссийской школы-семинара*. Том 1. С. 35. 2013.
7. **Vasilyeva A.**, Solovyova O., Markhasin V.S. Different vulnerability of subendocardial and subepicardial myocytes to arrhythmia. // *European Muscle Conference*. P. 149. 2013.
8. **Vasilyeva A.**, Solovyova O., Markhasin V.S. Contribution of the mechanical loads to susceptibility to arrhythmia in subendocardial and subepicardial ventricular myocytes // *Biophysical Journal*, Vol. 106, Issue 2, p731a
9. **Vasilyeva A.**, Vikulova N., Zamaraev D., Solovyova O., Markhasin V.S. Effects of Acute Myocardial Ischemia in Mathematical Models of Heterogeneous Myocardium // *Conference Computing in Cardiology*. P. 248. 2014.
10. **A. Vasilyeva**, G. Iribe, K. Naruse, O. Solovyova. Regional differences in contractility of isolated subepicardial and subendocardial ventricular myocytes // *European Muscle Conference*. P. 122. 2014

**Цитированная литература:**

1. Carmeliet E., Vereecke J. // Springer. 2002.
2. Ripplinger C.M., Lou Q., Li W. et al. // *Heart Rhythm*. 6(1): 87-97. 2009.



3. Benson A.P., Aslanidi O.V., Zhang H., Holden A.V. // *Progress in biophysics and molecular biology*. 96(1):187–208. 2008.
4. Trayanova N.A., Rice J.J. // *Frontiers in physiology*. 2. 2011.
5. Shimizu W., Antzelevitch C. // *Circulation*. 99(11): Pp. 1499–1507.
6. Wan X., Laurita K.R., Pruvot E.J., Rosenbaum D.S. // *Journal of molecular and cellular cardiology*. 39( 3): 419–428. 2005.
7. Мархасин В.С., Соловьева О.Э., Чумарная Т.В., Сухарева С.В. // *Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова*. 95(9): 919-943, 2009.
8. QI X-Y., Shi W-B., Wang H-H. et al. // *Acta Physiologica Sinica*. 52(5): 360–364. 2000.
9. Solovyova O., Vikulova N., Katsnelson L.B. et al. // *International Journal of Bifurcation and Chaos*. 13(12): 3757–3782. 2003.
10. Sulman T., Katsnelson L.B., Solovyova O., Markhasin V.S. // *Bulletin of mathematical biology*. 70(3): 910–949.2008.
11. Noble D., Varghese A., Kohl P., Noble P. // *The Canadian journal of cardiology*. 14(1):123-134. 1998.
12. Мархасин В.С., Кацнельсон Л.Б., Никитина Л.В. и др. // Екатеринбург: УрО РАН. 1999.
13. Katsnelson L.B., Nikitina L.V., Chemla D. et al. // *Journal of theoretical biology*. 230(3): 385–405. 2004.
14. Katsnelson L.B., Vikulova N.A., Kursanov A.G. et al. // *Russian Journal of Numerical Analysis and Mathematical Modelling*. 29(5): 275–284. 2014.
15. Solovyova O., Vikulova N., Markhasin V.S., Kohl P. // *Functional Imaging and Modeling of the Heart*. 8–17. 2003.
16. Cha C.Y., Himeno Yu., Shimayoshi T. et al. // *Biophysical journal*. 97(12): 3086–3094. 2009.
17. Cazorla O., Pascarel C., Garnier D., Le Guennec J-Y. // *Journal of molecular and cellular cardiology*. 29(6): 1629–1637.1997.

18. Bryant S.M., Wan X., Shipsey S.J., Hart G. //Cardiovascular research. — 1998. 40(2):322–331.
19. Sakmann B., Spindler A.J., Bryant S.M. et al. //Circulation research. 87(10): 910–914. 2000
20. Laurita K.R., Katra R., Wible B. et al. // Circulation research. 92(6): 668–675. 2003.
21. Wan X., Bryant S.M., Hart G. // Journal of anatomy. 202(6): 525–536.2003.
22. Ait Mou Y., Guennec J-Y., Mosca E., Tombe P. et al. // Pflugers Archiv. 457(1): 25–36. 2008.
23. Bryant S.M., Shipsey S.J., Hart G. // Cardiovascular research. 35(2):315–323.1997.
24. Cazorla O., Le Guennec J-Y., White E. // Journal of molecular and cellular cardiology. 32(5):735–744. 2000.
25. Wang W., Gao J., Entcheva E. et al. // Journal of Membrane Biology. 233(1-3):51–62. 2010.
26. Xu L., Chen J., Li X-Y. et al. // Molecular biology reports. 39 (4):3847–3852.2012.
27. Quinn F.R., Currie S., Duncan A.M. et al. // The Journal of physiology. 553 (1): 229–242. 2003.
28. Taggart P., Sutton P., Opthof T. et al. // Progress in biophysics and molecular biology. 82(1): 243–254. 2003.
29. Weiss J.N., Deutsch N. // American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology. 261: 671-676. 1991.
30. Weiss J.N., Venkatesh N., Lamp S. // The Journal of physiology. 447 (1): 649–673. 1992.
31. Shaw R.M., Rudy Y // Cardiovascular Research. 35: 256–272. 1997.
32. Furukawa T., Kimura S., Furukawa N., et al. // Circulation research. 68(6): 1693–1702. 1991.
33. Moreno J.D., Clancy C.E. // Journal of molecular and cellular cardiology. 52(3): 608–619. 2012.