

# MODEL KARDIOMYOCYTU V PROSTŘEDÍ MATLAB

Mikuláš Mlček, Vladimír Novák, Otomar Kittnar  
Universita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta  
Fyziologický ústav  
Albertov 5  
128 00, Praha 2

## KLÍČOVÁ SLOVA

Physiology, Model evaluation, Compartmental models, System dynamics, Nonlinear model

## ABSTRAKT

V příspěvku je presentována modulární implementace kompartmentového modelu srdeční buňky v prostředí Matlab/Simulink a výsledky simulací. Dosud realizovanými moduly jsou jednotka dynamiky kalcia, regulační jednotka a biochemický model kontraktálního aparátu, které byly konstruovány postupně a navzájem propojovány. Při porovnání výsledků simulací s experimentálními biologickými daty je patrná dobrá shoda.

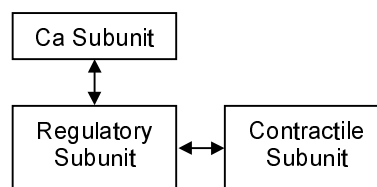
## ÚVOD

Typickou metodou výzkumné práce v biologických vědách je experimentální analýza. Lze se oprávněně domnívat, že rovněž metody matematické přírodovědy umožní hluboké porozumění této problematice; tyto metody jsou charakteristické tím, že umožňují dedukovat chování uvažovaných systémů, a to exaktně, na bázi abstraktní deskripce, vymezující podstatné elementární pojmy a jejich vlastnosti a vzájemné ovlivňování, čato formulované jako infinitezimální změny. Taková deskripce je vlastně matematickým modelem uvažované situace a příslušné deduktivní závěry jsou činěny kalkulativně, v rámci vhodných kalkulů; nejčastěji jde o vypočítávání řešení diferenciálních rovnic, neboť nejčastěji jsou zmíněné vztahy mezi elementárními veličinami formulovány jako diferenciální změny studovaných průběhů. Podstatnou komplikací takového přístupu je značná komplexnost studovaných celků daleko přesahující složitost klasických fyzikálních jevů. Biologická formalisace je pochopitelně činěna na základě experimentálních poznatků a zde je dalším častým problémem variabilita experimentálních podmínek, za kterých byla data získána. V současnosti jsou biologické simulace a modelování ve stadiu definic standardních postupů umožňujících jejich široké použití.

V tomto příspěvku je popsán model dynamických dějů srdeční buňky na úrovni řídicí a kontraktální. Řídicí procesy representovány modelem dynamiky kalciových iontů jsou pro svou farmakologickou ovlivnitelnost, a tedy přímý klinický dopad populárním tématem řady experimentálních prací. Navazující mechanické procesy na molekulární a buněčné úrovni jsou probádány méně. Jelikož podstatnou funkcí srdce je činnost mechanická, je právě porozumění souvislostem mezi elektrickou, biochemickou a mechanickou úrovní klíčovým krokem umožňujícím v důsledku efektivní terapii srdečních onemocnění.

## METODY

Pro formalisaci sledovaných dějů byla zvolena kompartmentová teorie. Její opodstatnění vychází z poznatků experimentální medicíny, kdy v rámci jednotlivých membránových struktur nejsou pozorovány



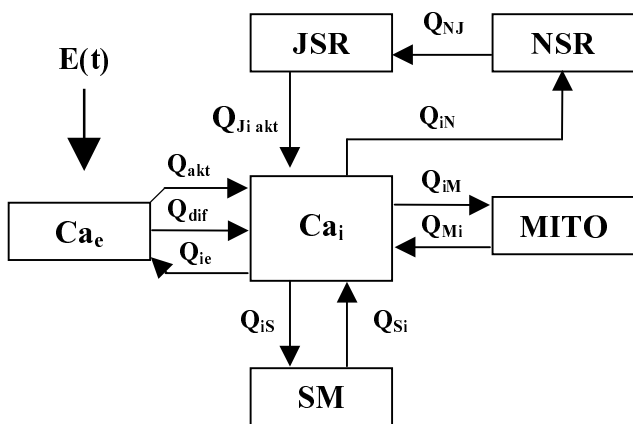
Obr. 1 Schema samostatně vytvořených subjednotek modelu

podstatné rozdíly v koncentraci sledovaných látek (Fozzard 1991). Původní biochemický kompartmentový model regulační a kontraktální subjednotky byl implementován v prostředí Matlab/Simulink verze 4 (Nemann et al 1999). Řídicí modul kalciové dynamiky byl vytvořen nezávisle později (Novák 2000, Mlček 2001). Obě často byly poté propojeny a systém byl převeden do verze Matlab R11.

Jako příklad identifikace modelu je dále popsána podjednotka dynamiky kalcia.

## Dynamika Kalcia

Vstupní veličinou modelu je časově proměnné napětí  $E(t)$ , které může reprezentovat intrakardiální akční potenciál, nebo v experimentální fyziologii velmi důležitou skokovou změnu membránového napětí (voltage clamp). V závislosti na tomto budícím signálu (vstupní veličině) je generován molaritní tok extracelulárního kalcia, které prochází membránou do intracelulárního prostoru kardiomyocytu (obr.2, Fozzard 1230, Fig.5). Matematická formulace modelu se omezuje na kalciové kanály typu L, jejichž účinek je výrazně svázán s kontraktální dynamikou sarkomery. Vstupující extracelulární kalciové ionty lze považovat za veličinu, řídící dynamické děje v sarkomeře, které jsou již přímo svázány s vytvářením příčných kalciových můstků a s nimi souvisejícími kontraktilně-dilatačními ději. Současně je však modelována dynamická výměna kalciových iontů v dalších strukturách (JSR, NSR a mitochondria), která doplňuje dynamické řízení kontraktility. Transport kalcia do extracelulárního prostoru modeluje aktivní účinek ATPázy. Do modelu jsme v této fázi nezahrnuli vyplavování kalcia Na-Ca výměníkem z intracelulárního do extracelulárního prostoru. Tento transportní proces vykazuje ve srovnání s dynamikou jedné kontrakce kardiomyocytu výrazně větší hodnoty časových



Obr 2: Blokové schéma modelu dynamiky kalcia.  $E(t)$  – membránový potenciál,  $Ca_e$  – extracelulární kalcium,  $Ca_i$  – nitrobuňečné kalcium,  $SM$  – sarkomera,  $MITO$  – mitochondrie,  $JSR$ ,  $NSR$  – podjednotky sarkoplasmatického retikula.  $Q_{akt}$  – napětově řízený proud kalcia,  $Q_{dif}$  – pasivní proud kalcia,  $Q_{xx}$  – toky kalcia mezi příslušnými kompartmenty

konstant a nelze ho tedy jednoduše zahrnout do relaxační fáze jednoho kontrakčního cyklu (Fozzard 1991).

Získané výsledky byly verifikovány s experimentálně získanými daty případně s výsledky jiných přístupů k simulaci uvedeného problému.

Dynamika kompartmentu nitrobuňečného kalcia tedy může být vyjádřena následující diferenciální rovnicí

$$\frac{dCa_i}{dt} = Q_{dif} + Q_{akt} + Q_{ji} + Q_{mi} + Q_{si} - Q_{in} - Q_{im} - Q_{is} - Q_{ie} \quad (1)$$

Transport kalcia do buňky se skládá z difusního toku  $Q_{dif}$  – diffusion (leaks) a  $Q_{akt}$  – napětově řízený tok  $Ca^{++}$  prostřednictvím pomalých iontových L-typu. Podle prvního Fickova zákona lze  $Q_{dif}$  vyjádřit jako (Adam G. et al. 1995)

$$Q_{dif}(t) = K_{dif} [Ca_e - Ca_i(t)], \quad (2)$$

kde časová konstanta  $K_{dif}$

$$K_{dif} = \frac{D.S}{V.l}. \quad (3)$$

$D$  je difusní koeficient,  $S$  a  $l$  plocha a tloušťka membrány a  $V$  objem kardiomyocytu. Aktivní tok  $Q_{akt}$  kalciových iontů L- kanály vyjadřuje rovnice:

$$Q_{akt}(t) = K_{akt} \cdot I_{Ca}(t). \quad (4)$$

Pro vyjádření vztahu mezi kalciovým proudem  $I_{Ca}(t)$  a budícím membránovým napětím  $E(t)$  použijeme Hodgkin-Huxleův algoritmus (Hodgkin-Huxley 1952, Hille 1992), modifikovaný v práci (Beeler-Reuter, 1977):

$$I_{Ca}(t) = \bar{g}_{Ca} d \cdot f \cdot [E(t) - E_{RCa}] \quad (5)$$

Výpočet aktivačních a inaktivačních koeficientů ( $d$  a  $f$ ) byl proveden standardními způsoby založenými na aproximaci experimentálních dat. (Beeler ad Reuter 1977, McAllister et al. 1975).

Děje v sarkoplasmatickém retikulu jsou popsány odděleně pro oba hlavní oddíly JSR a NSR (Luo and Rudy 1994). Transport kalcia z nitrobuňečného prostoru do NSR se děje pasivně i aktivně. Difuze je popsána podobně jako (2)

$$Q_{inpas} = K_{in} [Ca_i(t) - Ca_{i0}], \quad (6)$$

kde  $K_{in}$  je konstanta difuze a  $Ca_{i0}$  klidová koncentrace iontů kalcia v buňčném oddílu. Aktivní děje lze vyjádřit jako

$$Q_{inakt} = K_{inakt} \cdot f_{\infty}(E) [Ca_i(t) - Ca_{i0}], \quad (7)$$

kde  $K_{inakt}$  je časová konstanta aktivního transportu a  $f_{\infty}(E)$  napětově závislá inaktivační konstanta. Pro tok  $Ca^{++}$  z NSR do JSR platí

$$Q_{NJ} = K_{NJ} \cdot f_{\infty}(E) [Ca_N(t) - Ca_{N0}], \quad (8)$$

$K_{NJ}$  representuje příslušnou rychlostní konstantu,  $Ca_{N0}$  klidovou koncentraci kalcia v NSR. Diferenciální rovnice dynamiky kompartmentu NSR pak bude mít tvar:

$$\frac{dCa_N}{dt} = Q_{in} - Q_{NJ}. \quad (9)$$

Zde je

$$Q_{in} = Q_{inpas} + Q_{inakt}. \quad (9a)$$

Podobně kompartment JSR může být popsán následující rovnicí:

$$\frac{dCa_J}{dt} = Q_{NJ} - Q_{Jiakt}, \quad (10)$$

kde  $Q_{Jiakt}$  je tok kalcia do cytoplasmy, což je klíčový moment spřáhující excitaci buňčné membrány s kontrakcí. Tento proces je nepřímým řízen změnami membránového potenciálu ( $d_{\infty}(E)$ ) a intracelulární koncentraci kalcia ( $Ca_i$ ) (Wong 1981):

$$Q_{Jiakt} = K_{Ji} \cdot d_{\infty}(E) \cdot Ca_J(t) [Ca_i(t) - Ca_{i0}]. \quad (11)$$

Dynamika kalcia vzhledem k mitochondrii může být následně analogicky popsána jako:

$$Q_{im} = K_{im} [Ca_i(t) - Ca_{io}] \quad (12)$$

$$Q_{Mi} = K_{Mi} \cdot d_{\infty}(E) \cdot Ca_M(t) \quad (13)$$

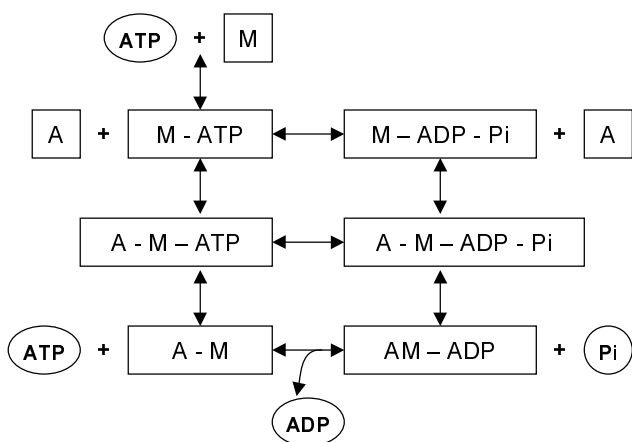
$$\frac{dCa_M}{dt} = Q_{iM} - Q_{Mi} \quad (15)$$

Komplexnost transportních procesů kalcia z buňky byla v současném stadiu vývoje modelu zjednodušena na jediný aktivní proces popsáný

$$Q_{ie} = K_{ie} [Ca_i(t) - Ca_{i0}] \quad (16)$$

### Regulační a kontraktilní podjednotka

Model kontraktilního aparátu (sarkomera) je representován soustavou deseti nelineárních diferenciálních rovnic popisujících kinetiku biochemických reakcí aktinu ( $A$ ) a aktin vázících míst myozinu ( $M$ ) a řídících a energetických elementů – kalcia ( $Ca^{++}$ ) a jeho vazných míst na bílkovině troponin C ( $TnC$ ), ATP a jeho metabolitů (viz Obr 3.). Tato část je konstruována principiálně obdobně jako výše uvedená dynamika kalcia a je podrobně rozvedena v dřívějších pracích (Novák et al. 1999; Neumann and Novák 1999; Novák and Neumann 2000; Mlček et al. 2001).



Obr 3: Blokové schéma kontraktilní podjednotky.  $M$  – myozin,  $A$  – aktin,  $ATP$ ,  $ADP$ ,  $Pi$  látky energetického metabolismu.

Propojení uvedených částí modelu, tedy intracelulární dynamiky kalcia a řídící a kontraktilní jednotky je fyziologicky representováno vazbou kalcia s regulační bílkovinou troponinem, tedy tokem do a ze sarkomery, jak je uvedeno v (1) (viz též obr. 2) a může být representováno vztahy

$$Q_{is} = K_{am} Ca_i(t) \cdot TnC(t) \quad (17)$$

$$Q_{si} = \frac{1}{u} \cdot K_{ab} A(t), \quad (18)$$

kde

$$u = \frac{A}{TnC - Ca} \quad (19)$$

Parametr  $u$  representuje koeficient troponinové vazby, která může podle různých biologických stavů měnit.

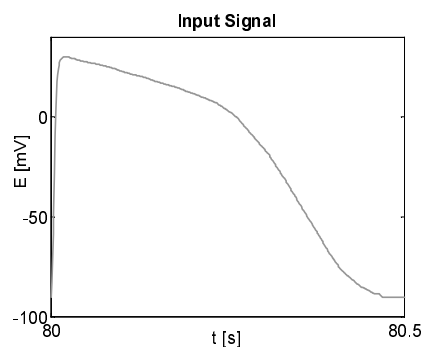
### Implementace v Matlab

První realizovaná část modelu, sarkomera, byla vytvořena na elektrotechnické fakultě ČVUT (Neumann 1999) v prostředí MATLAB-Simulink verze 4, jakožto běžně dostupným výukovým nástroji. Další úpravy a vývoj pokračoval na 1. lékařské fakultě UK. Přejít na novější verze R11 a R12 byly pro obavy o plnou zpětnou kompatibilitu oddalovány, nicméně konverse se nakonec ukázala bezproblémovou. Uživatelsky podstatně přívětivější prostředí novějších produktů pak podstatně usnadnilo práci lékařské části pracovního týmu, která neměla předchozí detailní zkušenost a vzdělání v programování. V tomto případě se jako nejužitečnější jevil systém nápovědy.

Vlastní grafické rozhraní Simulinku podstatně usnadnilo propojení částí modelu, kteréžto bylo díky přehlednému a parametrickému zadání překvapivě bezproblémové. Práce s konektory ve složitějších schématech se však místy ukázala jako nepřehledná, respektive vyžadující pečlivou editaci.

### Simulace

Typické parametry simulací: vstupní veličina: časově proměnné napětí  $E(t)$  representující akční potenciál srdeční buňky (obr. 4), opakovační frekvence 1 Hz, trvání simulace 75 s, krok 0.001 s, integrace Gear. Simulace byly prováděny na různých stanicích (2x Pentium III 450 MHz 256 MB RAM; Pentium III 966 MHz 512 MB RAM, Pentium III Xeon 550 MHz, 256 MB RAM) se srovnatelnými trváními výpočtů (3 min). Integrovaná metoda Gear byla zvolena z důvodů zpětné kompatibility a nedostatku zkušeností s jiným solverem.

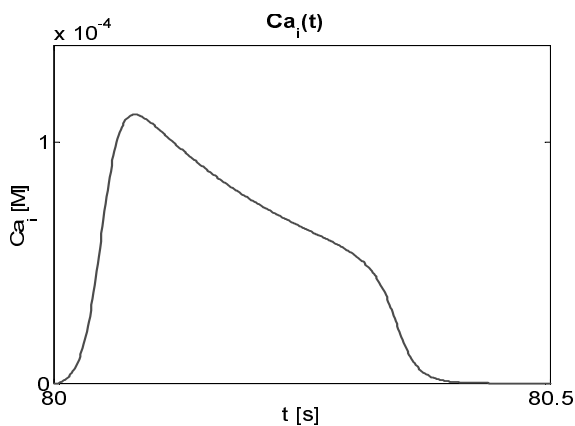


Obr 4: Vstupní signál  $E(t)$ . Experimentální data z akčního potenciálu srdeční buňky (Trautwein et al. 1962)

Primárním cílem simulací je studium souvislostí jednotlivých procesů a vlivu jejich změn na celý systém. Proto jsou při verifikaci modelu prováděny simulace za podmínek odpovídajících různým fyziologickým a patologickým stavům (opakovací frekvence 0.5 – 2 Hz, simulace poruchy kinetiky kalcia při srdečním selhávání).

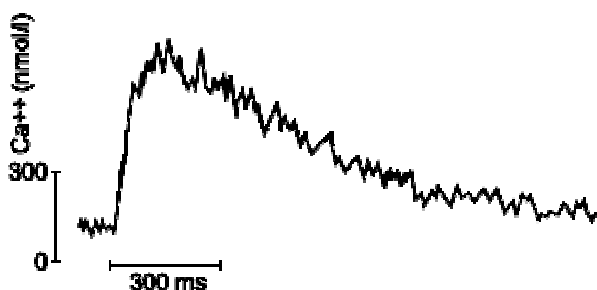
## VÝSLEDKY

Model byl stabilní během všech prováděných simulací relevantních pro zdravé či literaturou dokumentované poškozené srdeční tkáň, a to při trvání simulace 300 s. Ustáleného stavu bylo dosaženo po 180, nicméně dostatečně reprodukovatelných výsledků bylo dosaženo již kolem 75 s.



Obr 5: Koncentrace volného nitrobuněčného kalcia  $[Ca_i(t)]$  během jedné srdeční akce. Simulovaná data.  $M = \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

Dobrá korelace vypočítaného časového průběhu koncentrace volného nitrobuněčného kalcia ve srovnání s experimentálně získanými daty měření na živé buňce in vitro (Beuckelmann et al. 1992) je demonstrována na obrázcích 5 a 6. Méně výrazný pokles vypočítaných hladin kalcia oproti naměřeným datům může být dán zmíněnou simplifikací našeho modelu v oblasti transportních procesů z buňky ( $Q_{iv}$ , Na/Ca výměník).



Obr 6: Koncentrace volného nitrobuněčného kalcia  $[Ca_i(t)]$  během jedné srdeční akce. Experimentálně měřená data.  $M = \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  (Beuckelmann et al. 1992)

## DISKUSE

Model je výsledkem interdisciplinární spolupráce odborníků z oblasti medicíny a elektrotechniky. Současný model je značně jednoduchý a je stále počátečním stadiem dalšího vývoje. Je validní pro simulaci základních dějů studovaného systému, ale zatím nedovoluje stavění nových hypotéz. Spíše než diskuse samotného modelu, která je mámětem samostatných prací, zde uvedeme některá podstatná specifika přístupu k biologickým poznatkům prostředky matematické formalisace.

Charakteristickým rysem studovaných systémů je jejich komplexnost, k jejímž charakteristikám patří:

1. rozsáhlost
2. neurčitost
3. vrstvená dynamika.

Rozsáhlostí se zde míní velké množství elementů, pomocí nichž je realizována činnost studovaného systému, jakož i netriviální charakter vazeb mezi nimi.

Neurčitostí je myšlena jenom přibližná znalost elementů a vztahů mezi nimi; elementy nemusí například dány být tak precizně jako prvky elektrických obvodů, ale často jde o prvky jen empiricky přibližně určené, které snad eventuelně v budoucnosti budou exaktně explikovány; obdobně je tomu s vazbami. Lze také říci, že celá uvažovaná strukturace má fuzzy-charakter. Jinou úrovní neurčitosti je závislost měřených dat na podmínkách, za nichž byly získány a které často nejsou a nemohou být standardizovány a tudíž jednoduše srovnatelné.

Vrstvená dynamika je zhruba taková, jejíž globální fungování je výsledkem dějů, které probíhají na různých hierarchických úrovních, kde výsledky nižších jsou startovními determinantami pro vyšší. Jestliže integrování explikuje dynamiku danou klasickými infinitezimálními vztahy, můžeme říci, že vrstvená dynamika je explikována „vrstveným“ zintegrováním; tato heuristická úvaha ovšem musí teprve být přesněji formulována a rozvinuta.

## PODĚKOVÁNÍ

Tato práce je součástí grantového projektu 106/99/0975 Grantové agentury České republiky.

## REFERENCE

- Adam, G.; P. Läuger; G. Stark. 1995. *Physikalische Chemie und Biophysik*. Springer.
- Beeler, G.W.; H. Reuter. 1977. "Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres." *J. Physiol.* 268 No.1 (Jun), 177-210
- Beuckelmann, D.J.; M. Nabauer; E. Erdmann. 1992. "Intracellular calcium handling in isolated ventricular myocytes from patients with terminal heart failure." *Circulation.* 85 No.3 (Mar), 1046-55
- Fozzard, H.A. et al. 1991. *The Heart and the Cardiovascular System*. Sinauer. Vol. II, Pg.1227.
- Hille, B. 1991. *Ionic Channels of Excitable Membranes*. Sinauer.

- Hodgkin, A.L.; A. F. Huxley. 1952. "A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve." *J. Physiol.* No 117, 500-544.
- Luo, Ch.; Y. Rudy. 1994. "A Dynamic model of the cardiac ventricular action potential." *Circulation Research* No 74, 1071-1096.
- McAllister, R.E.; D. Noble, R.W. Tsien. 1975. "Reconstruction of the electrical activity of cardiac Purkinje fibres." *J. Physiol.* No 251 (Sept), 1-59.
- Mlcek, M.; O. Kittnar; J. Nemuann; V. Novák. 2001. "Mathematical Model of the Electromechanical Heart Contractile System. Physiological considerations of the regulatory subsystem." *Physiol. Res.* No 50. (in print)
- Neumann, J.; V. Novák. 1999. "Mathematical model of electromechanical heart contractile system." In *Annals of DAAAM for 1999 and Proceedings of the 10<sup>th</sup> International DAAAM Symposium*. Vienna
- Novák, V.; J. Soukup; J. Neumann. 1999. "Dynamic properties of a system modeling electromechanical contractile heart system." In *Proceedings of international symposium Mendel '99*. Brno
- Novák, V.; J. Neumann. 2000. "Mathematical model of the electromechanical heart contractile system - simulation results." In *Proceedings of CardioModel 2000*. University Karlsruhe.
- Reuter, H.; H. Scholz. 1977. "A study of the selectivity and kinetic properties of the calcium dependent slow inward current in mammalian cardiac muscle." *J. Physiol.* No 264, 17-47.
- Trautwein, W.; D.G. Kassebaum. 1962. "Electrophysiological Study of Human Heart Muscle." *Circulation Research* 10, 306-312.
- Wong, A.Y.K. 1981. "A model of excitation-contraction coupling of mammalian cardiac muscle." *Journal of Theoretical Biology* No 90, 37-61.