

České vysoké učení technické v Praze

Fakulta strojní



Bedřich Sousedík

MATEMATICKÝ MODEL KONTRAKTILNÍHO APARÁTU SRDEČNÍ BUŇKY

Diplomová práce

Automatické řízení a inženýrská
informatika

Řešitel: Bedřich Sousedík

Vedoucí: Doc. Ing. Jan Soukup, CSc.

Datum zadání diplomové práce: 4. 6. 2001

Datum odevzdání diplomové práce: 29. 6. 2001

Obsah

1 Srdce - stavba a funkce	2
1.1 Srdce jako orgán	2
1.2 Stavba srdce	2
1.3 Činnost srdce	3
1.4 Srdeční buňky	3
1.5 Řízení srdeční činnosti	4
1.6 Elektro-mechanický kontraktilní systém	8
2 Dynamika intracelulárního kalcia	9
2.1 Předpoklady	9
2.2 Matematický model	11
2.3 Volba počátečních hodnot a časových konstant	15
2.4 Výsledky simulace počítačového modelu	17
2.5 Shrnutí a zhodnocení simulace dynamiky kalcia	28
3 Kontraktilita srdeční buňky	30
3.1 Mechanismus vzniku příčného můstku	30
3.2 Množství příčných můstků $AM(t)$	34
3.3 Model srdečního svalu	38
3.4 Energetická náročnost cyklu kontrakce	41
3.5 Isometrická kontrakce	41
3.6 Isotonická kontrakce	43
3.7 Návrh řešení a volba konstant modelu	45
3.8 Simulace modelu kontrakce	47
3.9 Shrnutí a zhodnocení modelu kontraktility	59
4 Závěr práce	63
A Přehled použitého značení	67
B Simulinkovská schemata modelu dynamiky kalcia	69
C Výpis programu simulace kontrakce	74
D Návod k použití simulačních programů	81

Kapitola 1

Srdce - stavba a funkce

1.1 Srdce jako orgán

Srdce je centrální částí oběhového systému organismu. Pracuje jako pumpa zajišťující nepřetržitou cirkulaci krve organismem. Krví jsou všem orgánům transportovány živiny a regulační faktory a pryč jsou odváděny odpadní produkty metabolismu. Kardiovaskulární systém se také podílí na udržování tělesné teploty. Činnost všech orgánů a tím celého organismu závisí na nepřetržitém a bezproblémovém přísunu těchto látek. Je tedy zřejmé, že srdeční činnost hraje v organismu důležitou a nezastupitelnou roli.

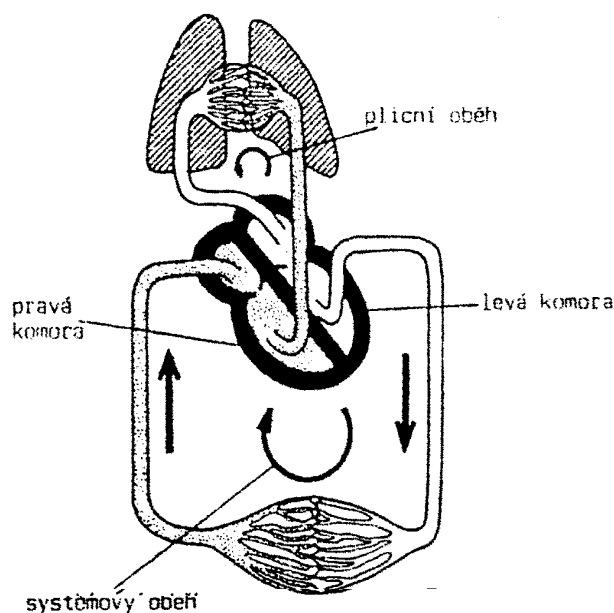
Srdeční funkce je velmi náročná jak z hlediska regulačního, tak i z hlediska energetického: za průměrnou dobu života 70 let srdce vykoná více než 36 milionů stahů při nichž přečerpá 180 milionů litrů krve, přičemž v případě potřeby může okamžitý výkon srdce stoupnout až na pětinasobek své klidové hodnoty zvýšením tepové frekvence a zvětšením objemu vypuzované krve.

K zajištění této činnosti má srdce zvláštní strukturu a vlastnosti, které jsou popsány v dalších odstavcích.

1.2 Stavba srdce

Srdce je dutý svalový orgán uložený ve vaku zvaném osrdečník (lat. perikard) v dutině hrudní za hrudní kostí. Skládá se ze dvou částí: pravé a levé, které jsou vzájemně odděleny srdeční přepážkou. Každá z obou částí se skládá ze síně a komory a každá z těchto částí zajišťuje jeden samostatný krevní oběh. Pravé srdce zajišťuje plicní (malý) oběh a levé srdce zajišťuje tělní (velký) oběh. Plicní oběh odvádí krev do plic, kde je okysličena a přivedena zpět do levé síně. Tlak tohoto oběhu je $25/8$ Torr¹ a svalovina pravé části srdce je méně vyvinutější než svalovina levé části srdce, kterou je krev vypuzována pod vyšším tlakem $120/80$ Torr do tělního oběhu k jednotlivým orgánům a poté přivedena cévní soustavou zpět do pravé síně. Schema krevního oběhu je zachyceno obrázkem 1.1.

¹Lékaři stále používají pro vyjádření tlaku mm rtuťového sloupce.



Obrázek 1.1: Schema krevního oběhu.

1.3 Činnost srdce

Spojením řízení obou samostatných oběhů, ev. pump do jednoho orgánu je dokonale synchronizována jejich činností tak, že současně pracují obě poloviny srdce. Čerpací činnost srdce sestává z rytmického střídání kontrakce (systoly) a relaxace (diastoly) srdeční svaloviny. Spojení jedné systoly s jednou diastolou se nazývá srdeční revoluce. Klidová frekvence srdeční revoluce je 75 tepů/min. Její reciproká hodnota je tzv. délka srdeční revoluce: 0,80 s, přičemž délka systoly je 0,3 s a diastoly 0,5 s.

1.4 Srdeční buňky

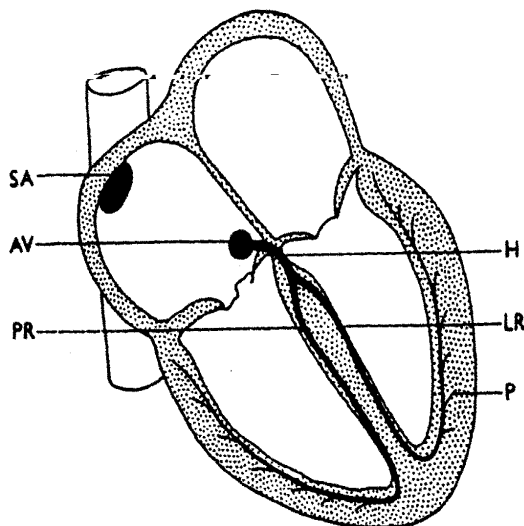
Srdce se skládá ze dvou skupin buněk. První skupinu (1%) představují buňky převodního systému, buňky automatické. Tyto buňky zajišťují vytváření a vedení vzruchů v podobě akčního potenciálu. Druhou skupinu (99%) tvoří kontraktilní svalové buňky (kardiomyocyty), které na vzruchy odpovídají kontrakcí. Svalová buňka se skládá z podjednotek označovaných jako sarkomery, které obsahují soustavu aktinových a myosinových filament, které vzájemným posunem zajišťují svalovou kontrakci. Tyto buňky jsou příčně pruhované podobně jako buňky kosterního svalu a jsou vzájemně spojeny interkalárními disky, které se podílejí jak na vazbách, tak i na komunikaci mezi kardiomyocyty. V nich se dají rozlišit tzv. spojovací kanálky (angl. gap junctions), jimiž mohou z jedné buňky do druhé procházet ionty nízkomolekulové látky, kterými se šíří akční potenciál.

Srdeční buňky mají čtyři specifické vlastnosti, které umožňují srdci pracovat jako pumpa:

1. **automacie** - schopnost tvořit vzruchy (frekvenci srdeční činnosti)
2. **vodivost, dromotropie** - schopnost vést vzruchy (rychlost šíření podráždění vodivou tkání)
3. **vzrušivost** - schopnost odpovědět na vzruch (velikost prahového potenciálu)
4. **inotropie** - staživost (vztah síly a rychlosti kontrakce)

1.5 Řízení srdeční činnosti

Srdeční činnost je řízena zejména tzv. převodním systémem srdečním, Kromě toho se na řízení může podílet autonomní nervstvo (sympatikus - zrychluje činnost, parasympatikus - zpomaluje činnost) a hormony (adrenalin).



Obrázek 1.2: Převodní systém srdce

SA - sinoatriální uzel, AV - atrioventrikulární uzel, H - Hisův svazek, PR, LR - Tawarova raménka (pravé a levé), P - Purkyňova vlákna.

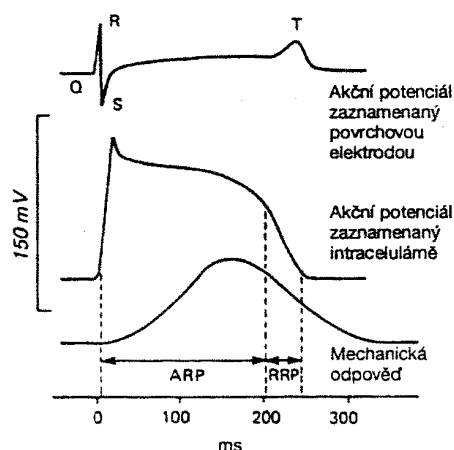
1.5.1 Převodní systém

Dále se budeme věnovat pouze převodnímu systému. Tento systém je zobrazen na obrázku 1.2. Podnět pro stah zvaný akční potenciál (AP) vzniká v sinoatriálním (SA) uzlu (pacemaker), který se nachází v pravé síni v blízkosti horní duté žíly (v. cava superior). Odtud se podráždění šíří oběma síněmi do atrioventrikulárního (AV) uzlu, který je umístěn u septálního okraje trojcípé chlopně. Vedení AV uzlem je pomalejší než síněmi. Tím je zaručeno jisté zpoždění, které

umožňuje postupnou kontrakci srdce. Z AV uzlu vybíhá Hisův svazek, který se dále dělí na dvě Tawarova raménka (levé a pravé). Každé z ramének zabíhá do jedné z komor. Ukončení převodního systému tvoří Purkyňova vlákna, která vedou podráždění z ramének do všech oblastí komorové svaloviny. Myokard je aktivován směrem od endokardu k epikardu. Podráždění je vedeno převodním systémem rychleji než svalovinou.

1.5.2 Elektrická aktivita myokardu

Buněčná membrána (sarkolema) má jistý klidový potenciál, který je dán rozdílem koncentrací iontů na obou stranách membrány. Klidový membránový potenciál srdeční buňky dosahuje přibližně -90 mV (záporné je nitro buňky). V klidovém stavu je tedy membránový potenciál bližší rovnovážnému potenciálu draslíku (-90 mV) než sodíku ($+60$ mV). Za těchto podmínek je permeabilita membrány pro ionty Na^+ velmi nízká. Ten je aktivním transportem neustále pumpován ven z buňky, a tak je jeho koncentrace uvnitř buňky 15krát nižší a koncentrace K^+ 40krát vyšší než vně buňky. Příchozí AP mění membránový potenciál tak, že se mění permeabilita membrány vůči různým iontům.



Obrázek 1.3: Vztah mezi elektrickou a mechanickou aktivitou srdce.

Příchozí akční potenciál pacemakeru (APP) má po příchodu na sarkolemu tvar zachycený obrázkem 1.3 a skládá se ze tří fází:

1. depolarizační fáze
2. fáze plató
3. repolarizační fáze

Při **depolarizační fázi** dochází ke zvýšení membránového potenciálu na hodnotu přibližně 10 mV a ke zvýšení permeability mebrány vůči Na^+ , tj. k otevření sodíkových kanálů. S nepatrným zpožděním dochází k uzavření draslíkových kanálů, což také přispívá k depolarizaci membrán.

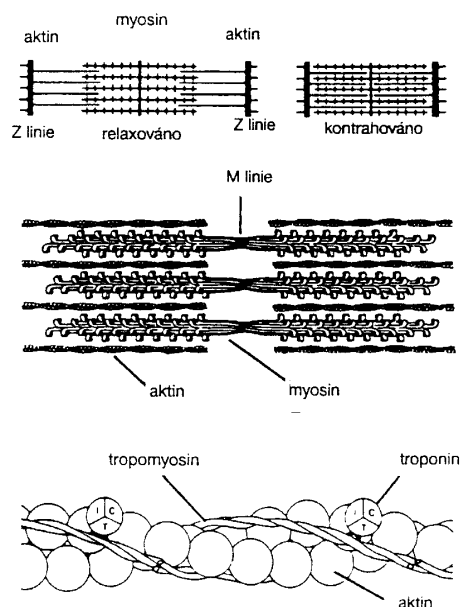
Během **fáze plató** zůstává membrána depolarizována na hodnotách kolem 0 mV. Důvody pro tuto pokračující depolarizaci jsou následující. Jedním důvodem je, že permeabilita membrány vůči draslíku zůstává pod svou klidovou hodnotou. Hlavním důvodem je ovšem výrazný vzrůst permeability membrány vůči iontům vápníku Ca^{2+} otevřením pomalých kalciových kanálů, které je spojeno s proudem iontů kalcia směrem dovnitř buňky. Proud kalcia a sodíku směrem dovnitř vyvažují proud draslíku směrem ven tak, že membrána zůstává depolarizována.

Repolarizace se objeví když se permeability kalcia, vápníku i draslíku vrátí ke svým počátečním hodnotám, tzn. pomalé kanály se uzavřou a kanály draslíku se otevřou.

S fází plató se překrývá tzv. **absolutní refrakterní fáze (ARP)** a s fází časně repolarizace **relativní refrakterní fáze (RRP)**. Během refrakterní fáze nemůže v žádném případě dojít ke kontrakci. Tetanická kontrakce tak, jak je známa u kosterního svalstva, je svalových buněk srdce vyloučena, neboť by měla za následek smrt.

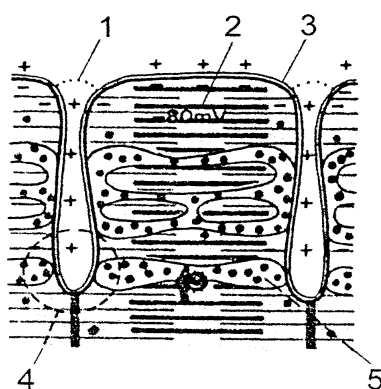
1.5.3 Sprážení excitace s kontrakcí

Depolarizace membrány svalové buňky vede ke kontrakci svalu, která je vyvolána zvýšením množství intracelulárního kalcia. Kalcium se váže na část regulačního proteinu troponinu zvanou troponin C (TnC). Tím se změní prostorová konfigurace troponinu a zejména tropomyozinu, který odkrývá jinak inhibovaná aktivní místa aktinu. Na tato místa se může okamžitě navázat hlavička myozinu a tak může dojít ke vzniku příčného můstku a následné svalové kontrakci. Podrobnější popis lze nalézt v literatuře [5, 19, 23].



Obrázek 1.4: Kontrakce svalu změnou vzájemné polohy aktinu a myozinu.

Množství kalcia (tzv. primární kalcium) přicházejícího z extracelulárního prostoru přes membránu do intracelulárního prostoru buňky během depolarizace samo o sobě k vyvolání kontrakce nestačí. Proud primárního kalcia je ale signálem, který ovlivňuje dynamiku uvolnění mnohem většího množství kalcia (tzv. sekundární kalcium) z intracelulárních organel zvaných sarkoplasmatické retikulum (SR), které slouží jako jakési "cisterny kalcia". Ionty primárního kalcia tedy zprostředkovávají přenos AP z extracelulárního do intracelulárního prostoru. Myofibrila (struktura zajišťující kontrakci) je uložena za přepážkou tvořenou sarkoplasmatickým retikulem (SR). V blízkosti terminálních cisteren SR jsou vchlípeniny buněčné membrány zvané transversální tubuly. Jeden transversální tubulus a dvě přilehlé terminální cisterny vytvářejí tzv. triádu (viz. obrázek 1.5).



Obrázek 1.5: Sarkotubulární systém srdeční buňky

1 - transversální tubulus, 2 - sarkomera, 3 - buněčná membrána, 4 - triáda, 5 - sarkoplasmatické retikulum.

Triády, řídicí tok primárních iontů kalcia, jsou místem spřažení elektrických dějů a ději mechanickými (kontrakce a relaxace). Svalová kontrakce končí, jakmile hladina kalcia klesne na svou původní úroveň. To se děje aktivním transportem kalcia do sarkoplasmatického retikula. Množství kalcia odpovídající primárnímu kalciumu je z buňky transportováno pomocí tzv. Na-Ca výměníku. Celkový obsah intracelulárního kalcia po ukončení kontrakce tedy zůstává stejný.

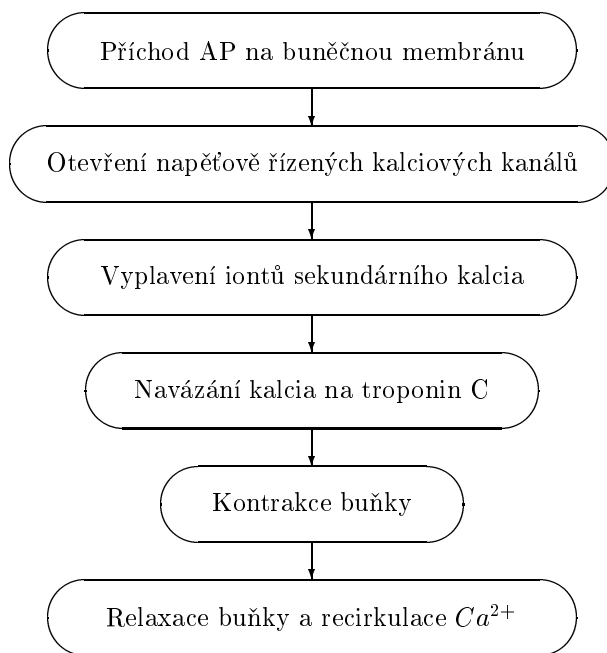
Jak uvádí Wong v [34] lze E-C spřažení rozdělit do čtyř fází:

1. Akční potenciál přichází na sarkolemu.
2. Tato depolarizace membrány dovoluje vstup iontů Ca zvenčí sarkolemy a uvolňuje kalciové ionty z terminální CSR.
3. Ionty Ca^{2+} difundují k molekulám troponinu a dovolují tak aktin-myosinovou interakci.
4. Dochází k disociaci Ca^{2+} z troponinu a sarkoplasmatické retikulum (SR) zpětně akumuluje tyto ionty a tak povoluje relaxaci.

Následující odstavce se zabývají návrhem, analýzou a simulací matematického modelu spřažení excitace s kontrakcí pro jednu srdeční buňku.

1.6 Elektro-mechanický kontraktilní systém

Popsaný elektro-mechanický kontraktilní systém srdce lze rozdělit do dvou základních, vzájemně spolupracujících subsystémů. Prvním je elektro-biochemický subsystém (E-B) a druhým je biochemicko-mechanický subsystém (B-M). Schema tohoto systému, které je podobné schématu v práci [19], je zachyceno na obrázku 1.6.



Obrázek 1.6: Schema elektro-mechanického systému srdeční buňky.

Obecně lze říci, že elektro-biochemický podsystém navrhovaného modelu je tvořen toky kalcia vyvolanými na základě příchodu AP na buněčnou membránu. Oproti tomu biochemicko-mechanický subsystém souvisí s navázáním kalcia na troponin C, vznikem příčných můstků a následným zkrácením kontraktilní jednotky (sarkomery).

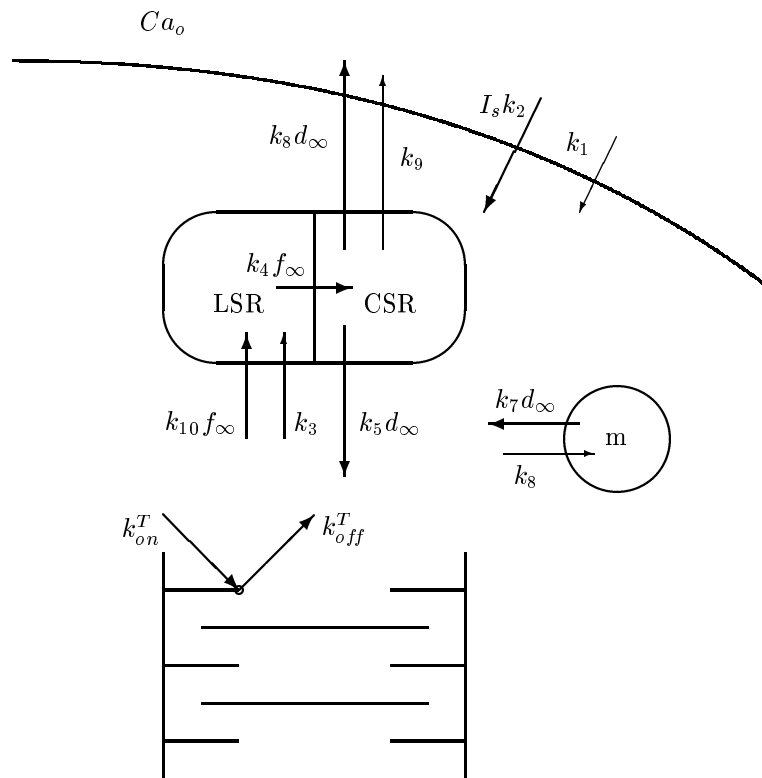
Kapitola 2

Dynamika intracelulárního kalcia

Pro modelování dynamiky kalcia se jeví výhodné modelování pomocí tzv. kompartmentů. V kompartmentu se vyskytuje daná látka v homogenním stavu a v určitém množství (ev. koncentraci), přičemž kompartment by měl být chápán spíše jako myšlená oblast (nemusí být tedy vždy přesně prostorově vymezen). Míra akumulace (množství) látky v kompartmentu představuje stavovou proměnnou. Tento způsob vytváření modelu umožňuje přechod od parciálních derivací k derivacím obyčejným. Kompartmentem budu nazývat např. tzv. cisterní sarkoplasmatické retikulum a jemu příslušné množství iontů kalcia Ca_{CSR} bude stavovou proměnnou. Konstanty k charakterizují rychlost výměny molekul mezi jednotlivými kompartmenty. Nazýváme je rychlostními konstantami a jsou reciprokými hodnotami příslušných časových konstant popisovaných dynamických dějů.

2.1 Předpoklady

Jak bylo naznačeno v předchozí části, proud primárního kalcia I_s přes buněčnou membránu dovnitř buňky během depolarizace indukuje uvolnění sekundárního kalcia z cisternového sarkoplasmatického retikula (CSR) do sarkoplasmu. Míra uvolňování je funkcí membránového potenciálu $E(t)$ a také závisí na množství sarkoplasmatického kalcia Ca_{sp} . Tyto dva hlavní zdroje zvyšují množství intracelulárního kalcia tak, že dochází k eliminaci inhibičního efektu tropomyozinu. Tím je zprostředkována iniciace aktin-myosinového spojení, tj. vznik příčného můstku. Dochází k vytvoření napětí, ke zkrácení sarkomery a tedy ke svalové kontrakci. Zpětný tok a recirkulace kalcia zpět do CSR jsou považovány za aktivní proces a děje se tak pomocí tzv. longitudinálního sarkoplasmatického retikula (LSR). Kalcium z LSR je dále převáděno zpět do CSR. Jistou úlohu v soustředění kalcia mají také mitochondrie. Recirkulací kalcia je umožněno uvolnění (relaxace) svalu. Kalcium soustředěné v CSR je pak znovu využito v další periodě cyklu srdeční kontrakce.



Obrázek 2.1: Schematické znázornění toku iontů Ca^{2+}

Tučné šipky značí, že tok iontů Ca^{2+} je funkcí času. Tenké šipky značí výtok závislý pouze na množství iontů kalcia daného kompartmentu. Proud iontů primárního kalcia I_s řízený konstantou k_2 řídí výtok iontů sekundárního kalcia z CSR. Kalcium je aktivně zachycováno do LSR. Mitochondrie jsou značeny m a konstanty k_{on}^T , k_{off}^T jsou mírami navazování resp. vyvazování kalcia na troponin C a tím přímo ovlivňují množství aktivních míst aktinu schopných okamžitého vytvoření příčného můstku vazbou s hlavičkou myozinu. Množství extracelulárního kalcia je označeno Ca_o a d_∞ , f_∞ značí ustálené hodnoty pravděpodobnostních funkcí otevření (uzavření) kalciových kanálů.

Pro odvození dynamických rovnic byly učiněny následující předpoklady podle práce [34]:

1. Do modelu nejsou začleněny proudy sodíku a vnější proud draslíku. Také je zanedbán vliv Mg-Ca vazebných míst, za předpokladu, že hrají pouze nepřímou roli ve svalové kontrakci.
2. Předpokládá se, že vstupní proud I_s je nesen převážně ionty kalcia Ca^{2+} . Jeho úkolem je zvýšení sarkoplazmatického kalcia, které následně vyvolá vyplavení iontů Ca^{2+} z CSR.
3. Reverzní potenciál E_R při kterém dochází k uzavření kanálů se příliš nemění, tj. je uvažován konstantní.
4. Na-Ca výměník, jehož úkolem je vyplavení iontů kalcia ven z buňky, není zatím v modelu začleněn.

Schema navrhovaného systému je zobrazeno na obrázku 2.1.

2.2 Matematický model

2.2.1 Kinetika proudu kalcia dovnitř buňky

Příchod AP na membránu vyvolává její depolarizaci a následné otevření pomalých kalciových kanálů. Dovnitř buňky teče proud I_s , který je nesen zejména ionty Ca^{2+}

$$I_s = \bar{g}_s d(t) f(t) (E - E_R) \quad (2.1)$$

kde \bar{g}_s představuje maximální vodivost membrány, jejíž hodnota je závislá na koncentraci extracelulárního kalcia Ca_o . V modelu je uvažováno $\bar{g}_s = 0,09 mS$ při množství extracelulárního kalcia $Ca_o = 1.8 mM$. Příchozí akční potenciál na sarkolemu je označen $E(t)$ a E_R označuje tzv. reverzní potenciál, tj. potenciál při kterém se uzavírají iontové kanály. V souladu s článkem [34] je hodnota $E_R = 34 mV$.

Funkce $d(t)$ značí časový charakter aktivace a $f(t)$ inaktivace tzv. pomalých kalciových kanálů (pravděpodobnostní funkce jejich otevření resp. uzavření) a jsou popsány následujícími rovnicemi

$$d(t) = d_\infty - (d_\infty - d_0) \exp(-t/\tau_d) \quad (2.2)$$

$$f(t) = f_\infty - (f_\infty - f_0) \exp(-t/\tau_f) \quad (2.3)$$

Hodnoty d_0, f_0 značí počáteční hodnoty aktivační (resp. inaktivační fce). Jejich hodnoty jsou $d_0 = 0$, $f_0 = 1$.

Hodnoty ustálených stavů d_∞, f_∞ , a časové konstanty τ_d, τ_f lze spočítat pomocí konstant α, β

$$\alpha, \beta = C_1 \exp[C_2(E + C_3)] / \{1 + \exp[C_4(E + C_3)]\} \quad (2.4)$$

pomocí nichž lze konečně vypočítat žádané hodnoty konstant jako

$$\tau_y = 1/(\alpha_y + \beta_y) \quad (2.5)$$

$$y_\infty = \alpha_y/(\alpha_y + \beta_y) \quad (2.6)$$

přičemž symbolu y je použito jako zástupného znaku pro d i f (tj. $y = d, f$), neboť obě dvě funkce $d(t)$, $f(t)$ se počítají stejným způsobem.

V tabulce 2.1 jsou uvedeny hodnoty konstant α, β k výpočtu hodnot $d_\infty, \tau_d, f_\infty, \tau_f$ určujících časový charakter proudu I_s dovnitř buňky podle práce [1].

Tabulka 2.1: Konstanty α, β k výpočtu proudu I_s .

Rychlostní konstanta (s^{-1})	C_1 (s^{-1})	C_2 (V^{-1})	C_3 (V)	C_4 (V^{-1})
α_d	95	-10	-0.005	-72
β_d	70	-17	0.044	50
α_f	12	-8	0.028	150
β_f	6.5	-20	0.030	-200

2.2.2 Množství kalcia v sarkoplazmě

Na základě předchozích předpokladů a popsáných zdrojů kalcia může být popsána akumulace sarkoplazmatického kalcia následující rovnicí

$$\begin{aligned} dCa_{sp}/dt = & k_1(Ca_0 - Ca_{sp}) + k_2I_s + k_7d_\infty Ca_m + k_5d_\infty Ca_{CSR}(Ca_{sp} - Ca_{sp0}) \\ & - (k_6 + k_3 + k_{10}f_\infty)(Ca_{sp} - Ca_{sp0}) \end{aligned} \quad (2.7)$$

První člen značí pasivní difuzi Ca^{2+} přes buněčnou membránu závislou pouze na rozdílu množství kalcia uvnitř buňky (tj. v sarkoplazmě) a množství iontů Ca_o okolního prostředí. Druhý člen reprezentuje influx (proud) kalcia, když je buněčná membrána depolarizována po příchodu akčního potenciálu. Třetí člen značí výtok kalcia do sarkoplazmy z mitochondrii. Čtvrtý člen je hlavním zdrojem přítoku kalcia do sarkoplazmy (tzv. proud sekundárního kalcia) a je mu přisuzován hlavní podíl na aktivaci kontrakce srdečního svalu. V posledním členu značí část s k_6 , že kalcium je zachytáváno mitochondriemi a část s k_3 značí, že část kalcia, která je zachycována do LSR závisí pouze na rozdílu $(Ca_{sp} - Ca_{sp0})$. Část $k_{10}f_\infty(Ca_{sp} - Ca_{sp0})$ značí, že kalcium je také (a to zejména) aktivně transportováno do longitudinálního sarkoplazmatického retikula (LSR) pravděpodobně Na-Ca výměníkem nebo kalciovou pumpou.

2.2.3 Množství kalcia v CSR

Na základě experimentů můžeme stanovit tři hlavní příčiny ovlivňující rychlost uvolňování kalcia z CSR:

1. množství iontů kalcia uloženého v CSR
2. Množství iontů Ca^{2+} v sarkoplazmě
3. úroveň depolarizace

Změna množství iontů Ca^{2+} v CSR je dána rovnicí

$$\begin{aligned} dCa_{CSR}/dt = & -k_5d_\infty Ca_{CSR}(Ca_{sp} - Ca_{sp0}) + k_4f_\infty(Ca_{LSR} - Ca_{LSR0}) \\ & -k_8d_\infty Ca_{CSR} - k_9(Ca_{CSR} - Ca_{CSR0}) \end{aligned} \quad (2.8)$$

První člen reprezentuje časově závislý výtok sekundárního kalcia z CSR do sarkoplazmy, Druhý člen značí výměnu iontů kalcia z longitudinálního do cisterního sarkoplazmatického retikula, Třetí člen značí efflux kalcia ven z buňky během aktivace a konečně čtvrtý člen reprezentuje pasivní efflux, který se objevuje, když hladina Ca_{CSR} překročí svou klidovou hodnotu Ca_{CSR0} .

2.2.4 Množství kalcia v LSR

Longitudinální sarkoplazmatické retikulum (LSR) se podílí na aktivním odčerpávání sarkoplazmatického kalcia. Zpočátku probíhá tok kalcia ze SP do LSR ve směru gradientu iontů Ca^{2+} . S klesající hladinou Ca v sarkoplazmě se odčerpávání iontů Ca stává aktivním procesem, který je spojen s hydrolyzou ATP. Veškeré kalcium je z LSR přečerpáváno do CSR.

$$dCa_{LSR}/dt = (k_3 + k_{10}f_\infty)(Ca_{sp} - Ca_{sp0}) - k_4f_\infty(Ca_{LSR} - Ca_{LSR0}) \quad (2.9)$$

První člen indikuje, že proces odčerpávání kalcia ze sarkoplazmy sestává ze dvou částí: jedné nepřetržité a druhé časově závislé. Druhý člen značí přečerpávání kalcia z LSR do CSR během fáze relaxace.

2.2.5 Množství kalcia v mitochondriích

Význam mitochondrií je zejména dodávání energie pro náročnou a nepřetržitou srdeční činnost. Nicméně předpokládá se, že mitochondrie hrají určitou roli i v regulaci kalcia uvnitř srdeční buňky. Vzhledem k vysoké koncentraci mitochondrií v kardiomyocytech jsem se rozhodl začlenit je do modelu.

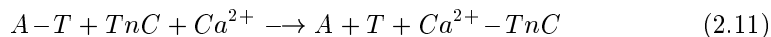
Hlavní funkcí mitochondrií v tomto modelu je odstraňování kalcia ze sarkoplazmy a jeho následné uvolňování. Množství kalcia zachycovaného v mitochondriích je ale velmi nízké ve srovnání s kalcíem uvolňovaným z CSR.

$$dCa_m/dt = k_6(Ca_{sp} - Ca_{sp0}) - k_7d_\infty Ca_m \quad (2.10)$$

První člen značí proces zachycování kalcia ze SP. Druhý člen reprezentuje uvolnění kalcia v závislosti na depolarizaci a množství kalcia v mitochondriích.

2.2.6 Množství aktivních vazebných míst aktinu $A(t)$

Jak už bylo naznačeno v úvodu, za normálních podmínek je aktivní místo aktinového filamenta inhibováno tropomyozinem (T). Po vyplavení kalcia z CSR do sarkoplazmy difundují ionty Ca^{2+} k molekule troponinu, kde reagují s troponinem C (TnC) a uvolňují tak vazebné místo. Tento proces lze popsat rovnicí



Následuje vytvoření aktin-myosinového komplexu (příčného můstku), což je podrobně rozebráno v následující kapitole. Časovou změnu množství aktinových míst schopných okamžitě reagovat s myozinem $A(t)$ lze vyjádřit pomocí pravidel kinetiky chemických rovnic (viz. [16]) jako

$$dA(t)/dt = k_{on}^T Ca_{sp}(t)(trop - A(t)) - k_{off}^T A(t) \quad (2.12)$$

Přičemž $Ca_{sp}(t)$ je okamžitá hodnota množství sarkoplazmatického kalcia. Proměnná $trop$ značí množství vazebných míst troponinu C a k_{on}^T, k_{off}^T označují rychlostní konstanty navazování a vyvazování kalcia na troponin C.

2.3 Volba počátečních hodnot a časových konstant

Počáteční (resp.klidové) hodnoty množství akumulovaných iontů v jednotlivých kompartmentech jsou dány tabulkou 2.2 a byly převzaty z práce [16]:

Tabulka 2.2: Počáteční množství iontů Ca^{2+} v kompartmentech.

Ca_{CSR0}	1×10^{-4}	M
Ca_{LSR0}	1×10^{-5}	M
Ca_{m0}	1×10^{-6}	M
Ca_{sp0}	1×10^{-7}	M

Přehled všech konstant použitých v modelu elektricko-biochemického subsystému shrnuje tabulka 2.3. Konstanty byly převzaty z prací [16, 34]:

Tabulka 2.3: Konstanty použité v modelu dynamiky kalcia.

Ca_o	$1,8 \cdot 10^{-3}$	M
g_s	$9 \cdot 10^{-5}$	S
E_R	0,034	V
d_0	0	–
f_0	1	–
k_1	0,0001	s^{-1}
k_2	–50	$M(As)^{-1}$
k_3	4,0	–
k_4	4,0	s^{-1}
k_5	750000,0	$(Ms)^{-1}$
k_6	2,0	s^{-1}
k_7	1,0	s^{-1}
k_8	1,0	s^{-1}
k_9	0,2	s^{-1}
k_{10}	100,0	s^{-1}
$trop$	$70 \cdot 10^6$	M
k_{on}^T	390000	$(Ms)^{-1}$
k_{off}^T	19,6	s^{-1}

Přehled rovnic použitých při simulaci dynamiky kalcia ¹

$$I_s = \bar{g}_s d(t) f(t) (E - E_R) \quad (2.1)$$

$$d(t) = d_\infty - (d_\infty - d_0) \exp(-t/\tau_d) \quad (2.2)$$

$$f(t) = f_\infty - (f_\infty - f_0) \exp(-t/\tau_f) \quad (2.3)$$

$$\tau_y = 1/(\alpha_y + \beta_y) \quad (2.5)$$

$$y_\infty = \alpha_y/(\alpha_y + \beta_y) \quad (2.6)$$

$$\begin{aligned} dC a_{sp}/dt = & k_1(C a_0 - C a_{sp}) + k_2 I_s + k_7 d_\infty C a_m + k_5 d_\infty C a_{CSR}(C a_{sp} - C a_{sp0}) \\ & - (k_6 + k_3 + k_{10} f_\infty)(C a_{sp} - C a_{sp0}) \end{aligned} \quad (2.7)$$

$$\begin{aligned} dC a_{CSR}/dt = & -k_5 d_\infty C a_{CSR}(C a_{sp} - C a_{sp0}) + k_4 f_\infty (C a_{LSR} - C a_{LSR0}) \\ & - k_8 d_\infty C a_{CSR} - k_9 (C a_{CSR} - C a_{CSR0}) \end{aligned} \quad (2.8)$$

$$dC a_{LSR}/dt = (k_3 + k_{10} f_\infty)(C a_{sp} - C a_{sp0}) - k_4 f_\infty (C a_{LSR} - C a_{LSR0}) \quad (2.9)$$

$$dC a_m/dt = k_6 (C a_{sp} - C a_{sp0}) - k_7 d_\infty C a_m \quad (2.10)$$

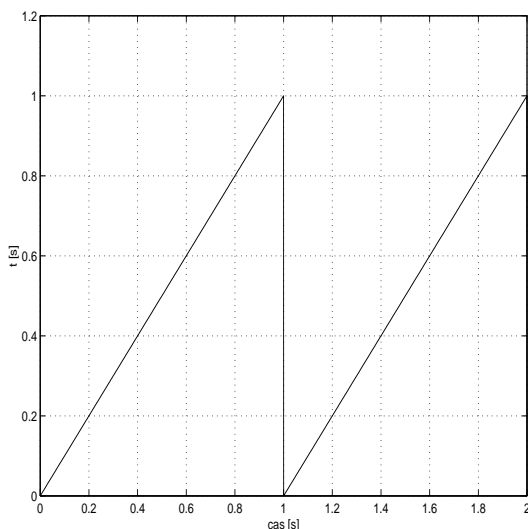
$$dA(t)/dt = k_{on}^T C a_{sp}(t) (trop - A(t)) - k_{off}^T A(t) \quad (2.12)$$

¹symbolu y je použito jako zástupného znaku pro d i f (tj. $y = d, f$)

2.4 Výsledky simulace počítačového modelu

Uvedená soustava diferenciálních rovnic byla řešena pomocí simulačního programu Matlab-Simulink verze 5.3.0. Pomocí tohoto modelu byly vyšetřeny časové změny množství iontů kalcia v popsanych kompartmentech srdeční buňky s následujícími parametry: doba simulace 100 s, časový krok 0,01 s. Z nabízených numerických metod jsem zvolil metodu ode 15s (stiff/NDF), relativní tolerancí 10^{-3} a absolutní tolerancí 10^{-6} s ohledem na to, že daný systém rovnic je typu stiff. Simulace proběhla na PC s procesorem Pentium MMX 166 MHz, paměti RAM 32 MB. Doba simulace (se zápisem výstupních veličin do souboru) byla na uvedeném počítači přibližně 10 hodin.

Jako časový vstup jsem v modelu použil signál pilového tvaru s dobou trvání 1 s ² (viz. obrázek 2.2), která odpovídá zvolené periodě srdeční revoluce. Hlavním vstupem do modelu je sice membránový potenciál $E(t)$, ale tento časový vstup je využit k získání periodického charakteru funkcí $d(t)$, $f(t)$.



Obrázek 2.2: Časový vstup do modelu $t[s]$.

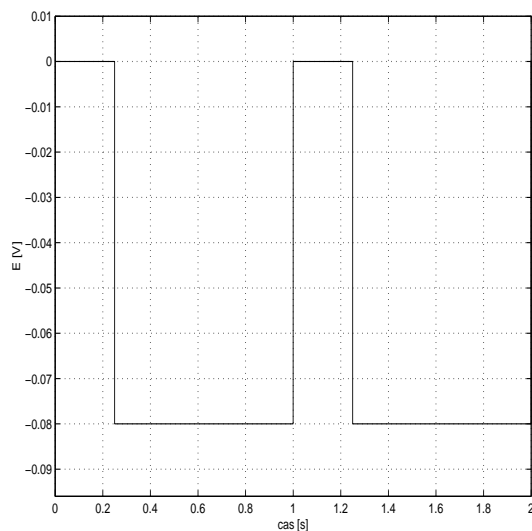
Výchozí hodnoty na integrátorech byly nastaveny na hodnoty počátečních množství akumulace iontů v jednotlivých kompartmentech podle tabulky 2.2.

²Perioda srdeční revoluce neodpovídá skutečné délce periody srdeční revoluce, která byla uvedena v úvodu, ale byla zvolena pro potřeby modelování a z důvodů verifikace výsledků s výsledky ve všech citovaných člancích.

2.4.1 Buzení akčním potenciálem obdélníkového tvaru

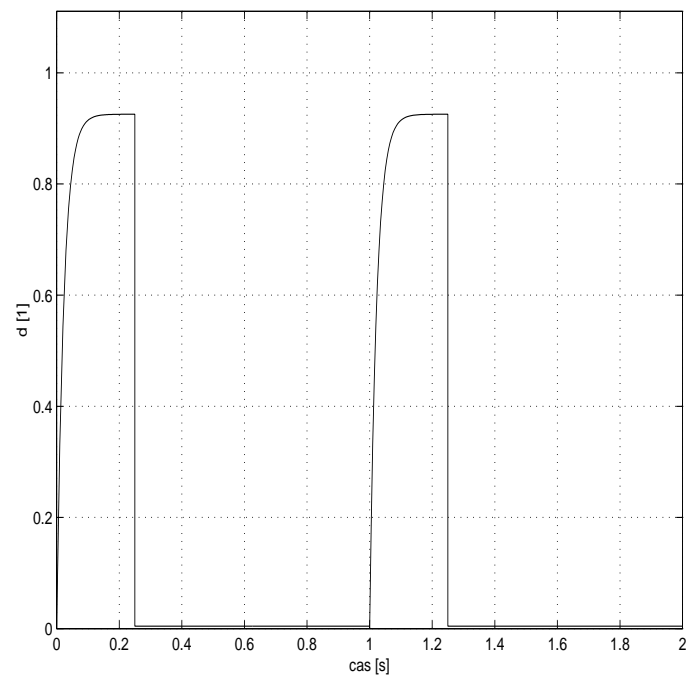
Jako budící impuls E jsem v prvním případě použil signál obdélníkového tvaru s dobou trvání depolarizace membrány $0,25\text{ s}$ a periodou taktéž 1 s (viz. obrázek 2.3).

Doba ustálení časových průběhů hodnot množství kalcia v jednotlivých kompartmentech byla následující. Nejrychleji se ustálila hodnota aktivních míst aktinu $A(t)$ a to přibližně po 60 vteřinách. To znamená, že zvyšující se maximální hodnota sarkoplazmatického kalcia Ca_{sp} ovlivňuje množství aktivních míst aktinu pro vznik příčných můstků jen do určité hodnoty. Po 85 vteřinách se přibližně ve stejném okamžiku ustálily zbývající hodnoty Ca_{sp} , Ca_{CSR} , Ca_{LSR} a Ca_m .

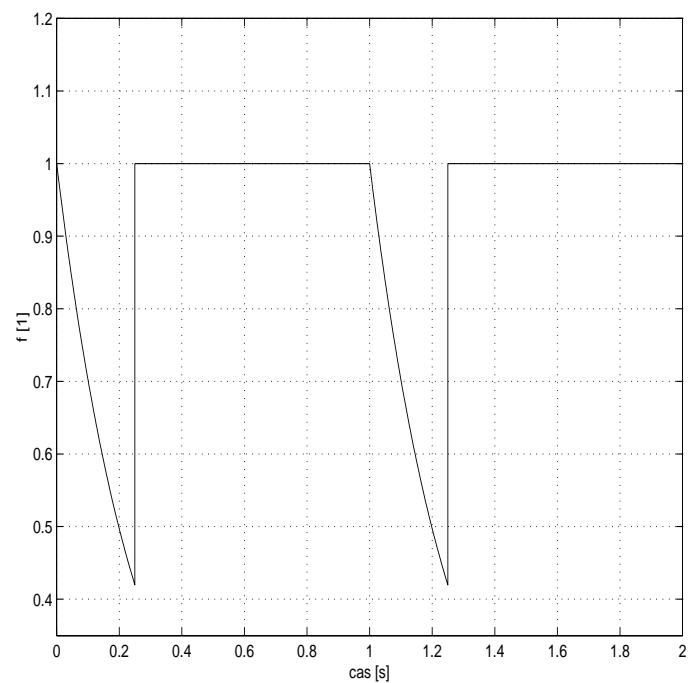


Obrázek 2.3: Membránový potenciál E obdélníkového tvaru.

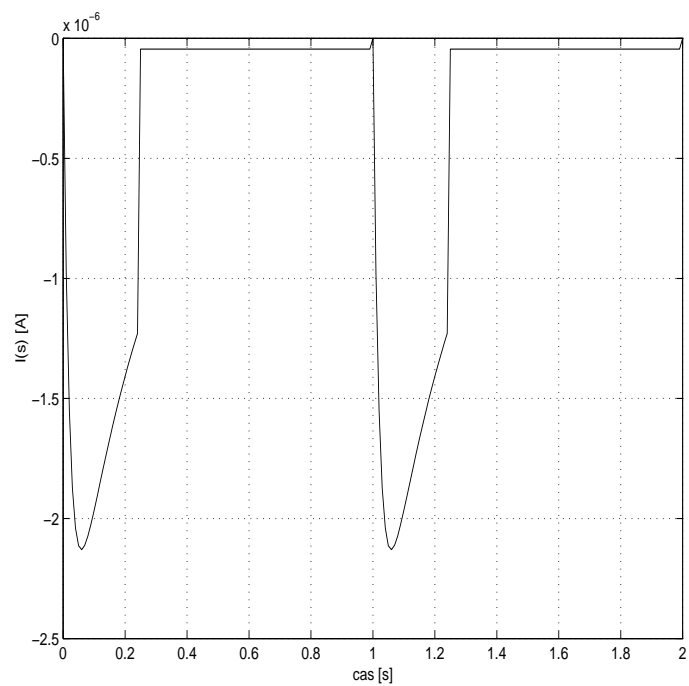
Průběhy všech časově závislých proměnných jsou zobrazeny na následujících grafech.



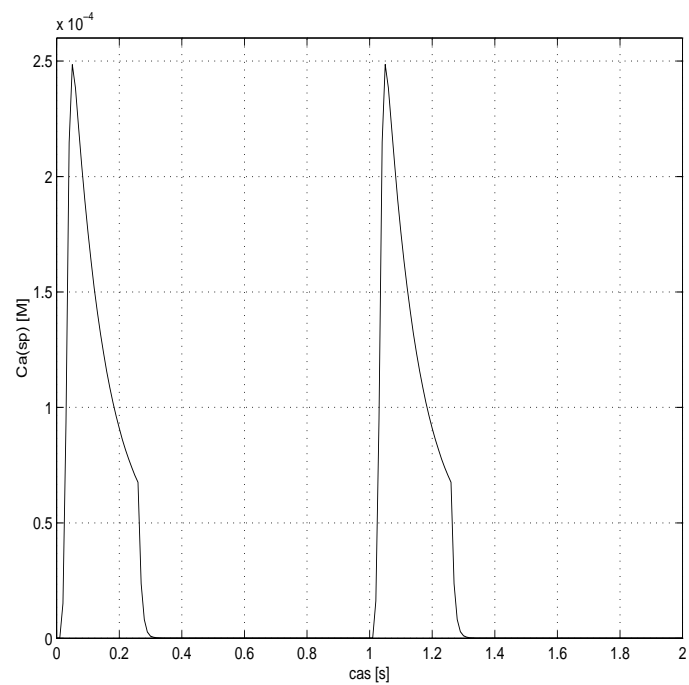
Obrázek 2.4: Pravděpodobnostní funkce otevření Ca kanálů $d(t)$.



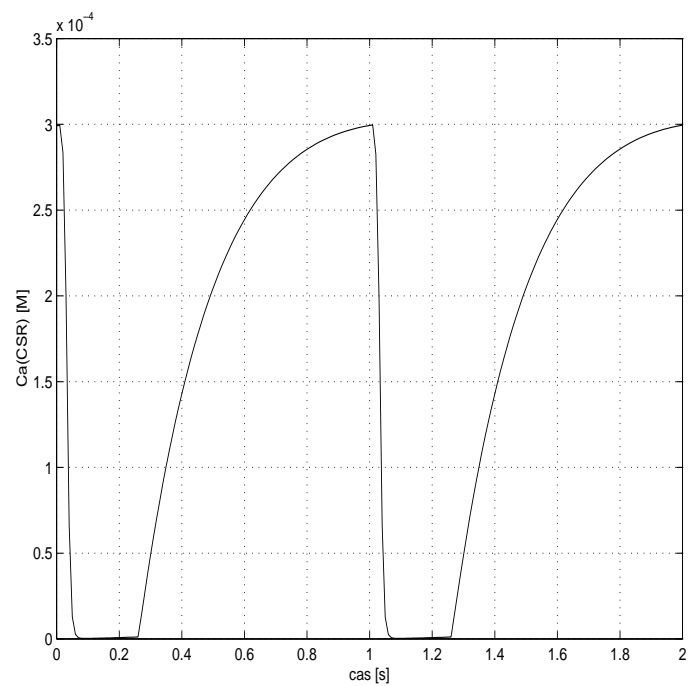
Obrázek 2.5: Pravděpodobnostní funkce zavření Ca kanálů $f(t)$.



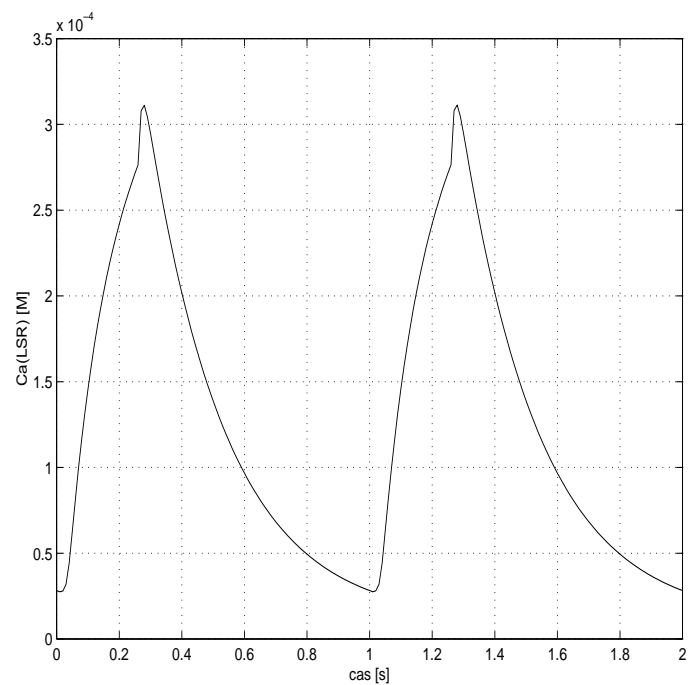
Obrázek 2.6: Proud kalcia $I_s(t)$ procházející přes membránu.



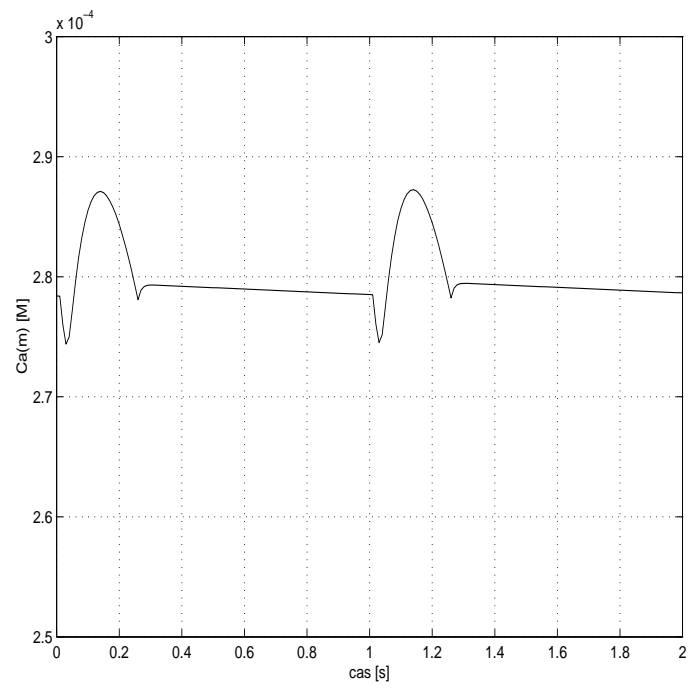
Obrázek 2.7: Množství sarkoplazmatického kalcia $Ca_{sp}(t)$.



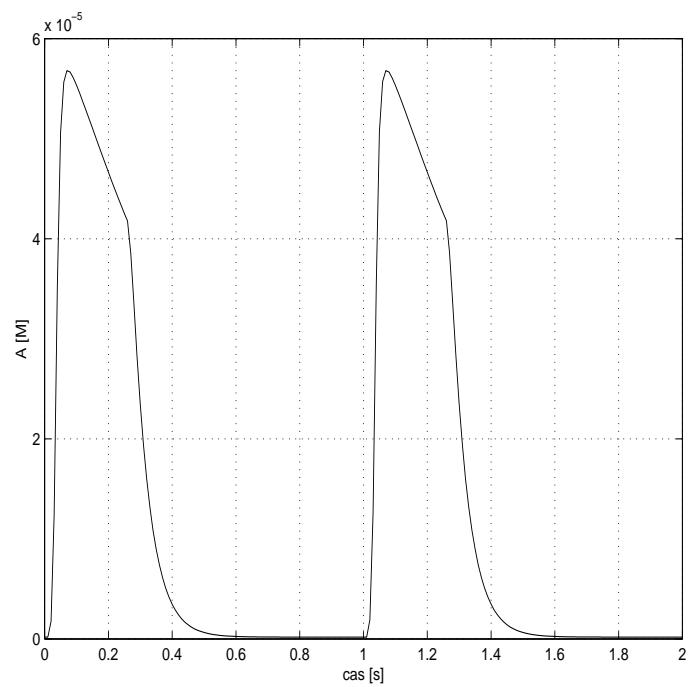
Obrázek 2.8: Množství kalcia v cisterním sark. retikulu $Ca_{CSR}(t)$.



Obrázek 2.9: Množství kalcia v longitudinálním sark. retikulu $Ca_{LSR}(t)$.



Obrázek 2.10: Množství akumulovaného kalcia v mitochondriích $Ca_m(t)$.



Obrázek 2.11: Množství aktivních (odkrytých) míst aktinu $A(t)$.

2.4.2 Buzení akčním potenciálem tvaru skutečného AP

V tomto případě byl jako vstup zaveden do modelu tzv. umělý akční potenciál dle Michailovy 1992 [16] popsaný následujícími rovnicemi a konstantami uvedenými v tabulce 2.4.

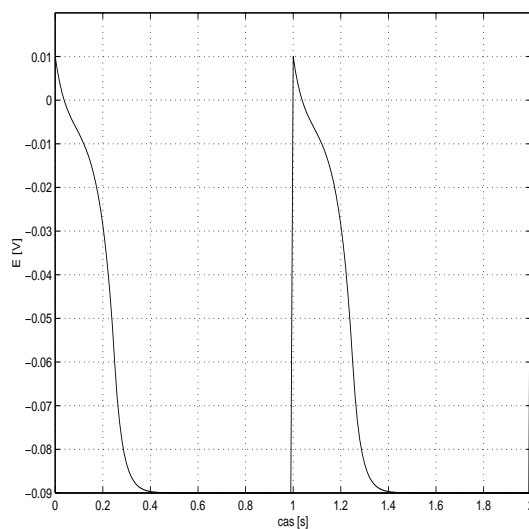
$$E(t) = V_p + (V_o - V_p)\exp(-ct) + V_m(1 - \exp(at)) \quad 0 \leq t \leq \tau \quad (2.13)$$

$$V_m = (V_s - V_p - (V_o - V_p)\exp(-c\tau))/(1 - \exp(a\tau)) \quad (2.14)$$

$$E(t) = V_r + (V_s + V_r)\exp(-b(t - \tau)) \quad t \geq \tau \quad (2.15)$$

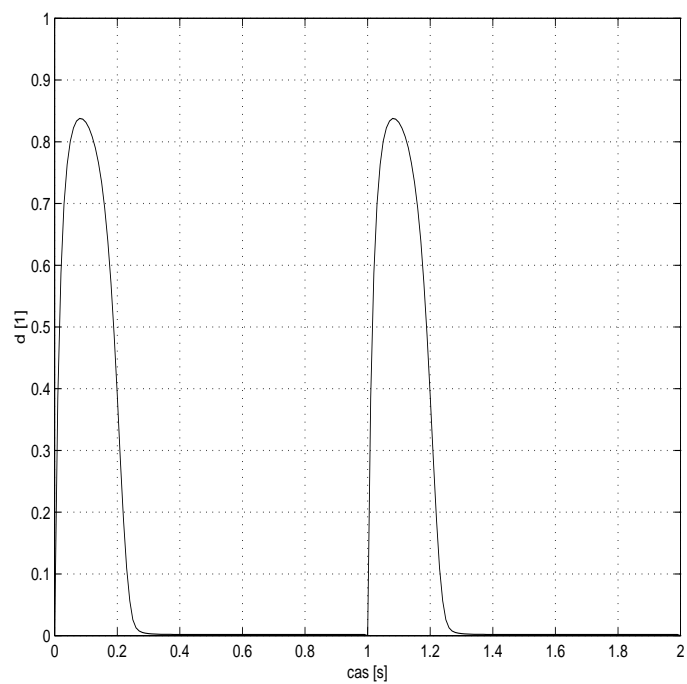
Tabulka 2.4: Konstanty pro výpočet umělého AP.

V_p	-0,005	V	a	16,5	s^{-1}
V_o	0,01	V	b	30	s^{-1}
V_r	-0,09	V	c	25	s^{-1}
V_s	-0,06	V	τ	0,25	s

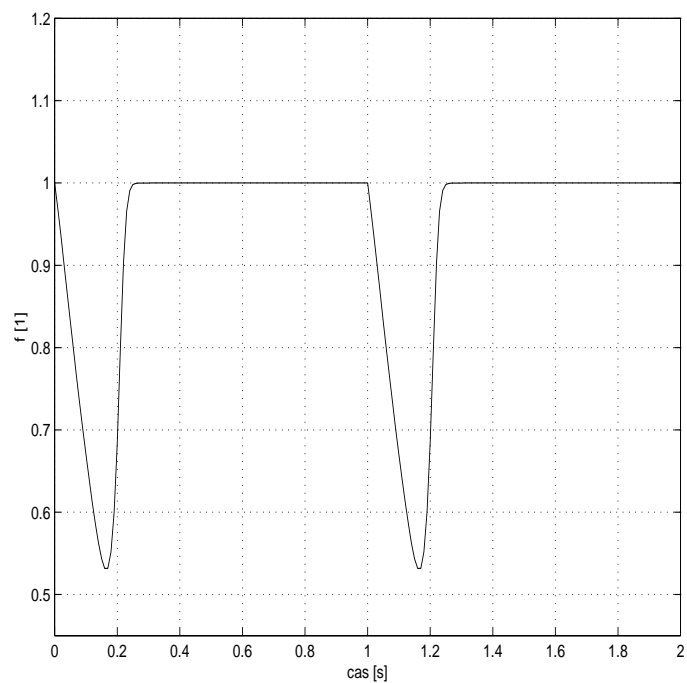


Obrázek 2.12: Membránový potenciál E tvaru skutečného akčního potenciálu.

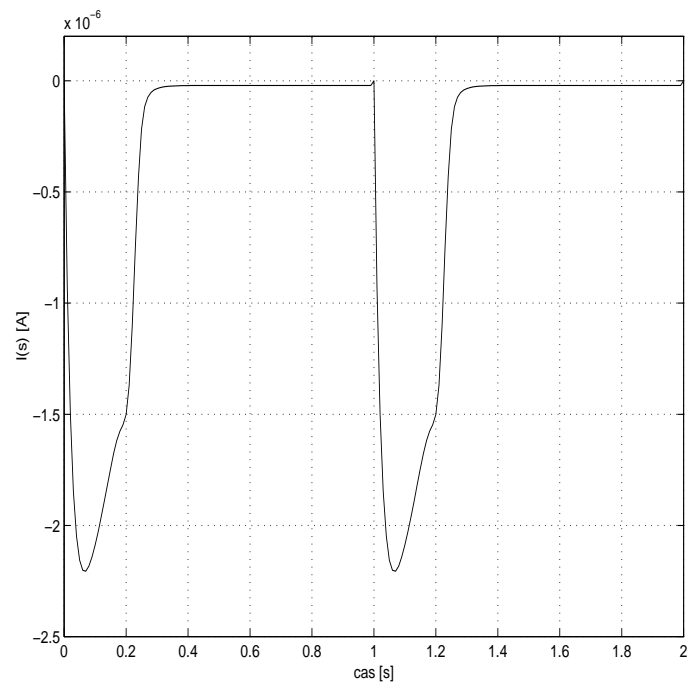
Doby ustálení maximálních hodnot iontů kalcia v jednotlivých kompartmentech byly obdobné jako v případě buzení akčním potenciálem obdélníkového tvaru.



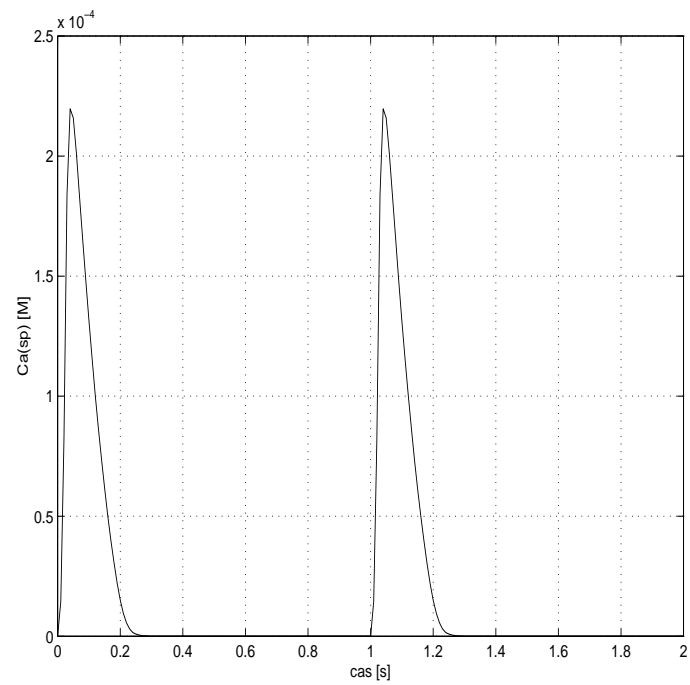
Obrázek 2.13: Pravděpodobnostní funkce otevření Ca kanálů $d(t)$.



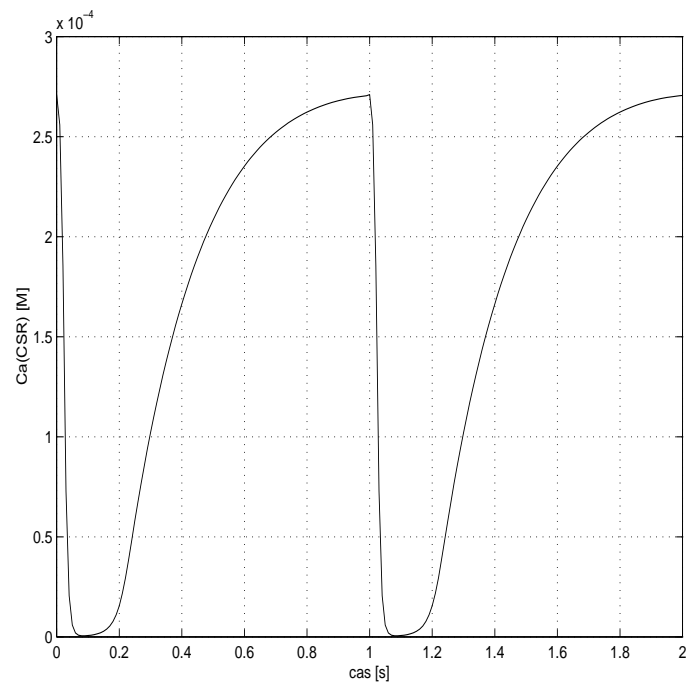
Obrázek 2.14: Pravděpodobnostní funkce zavření Ca kanálů $f(t)$.



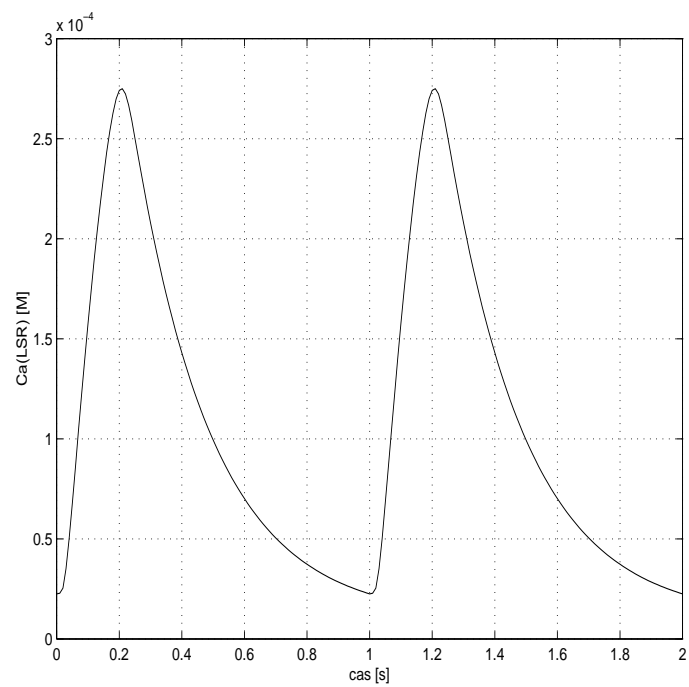
Obrázek 2.15: Proud kalcia $I_s(t)$ procházející přes membránu.



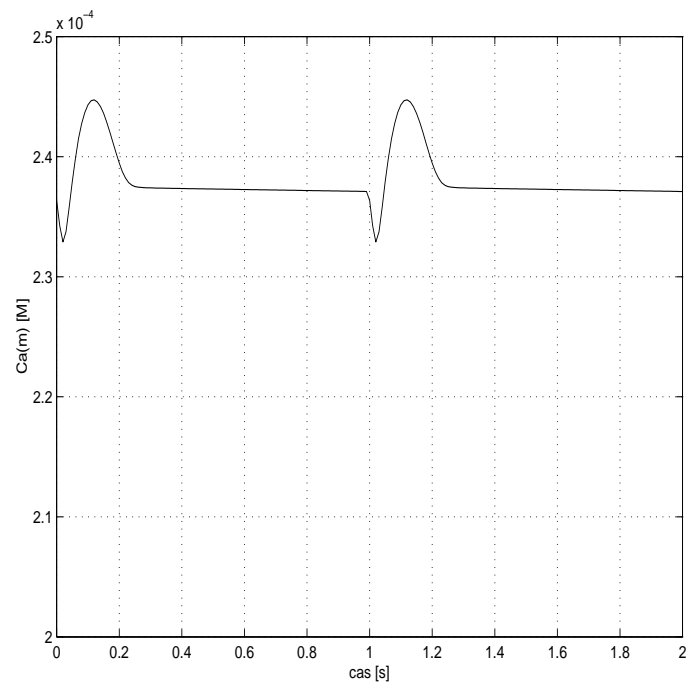
Obrázek 2.16: Množství sarkoplazmatického kalcia $Ca_{sp}(t)$.



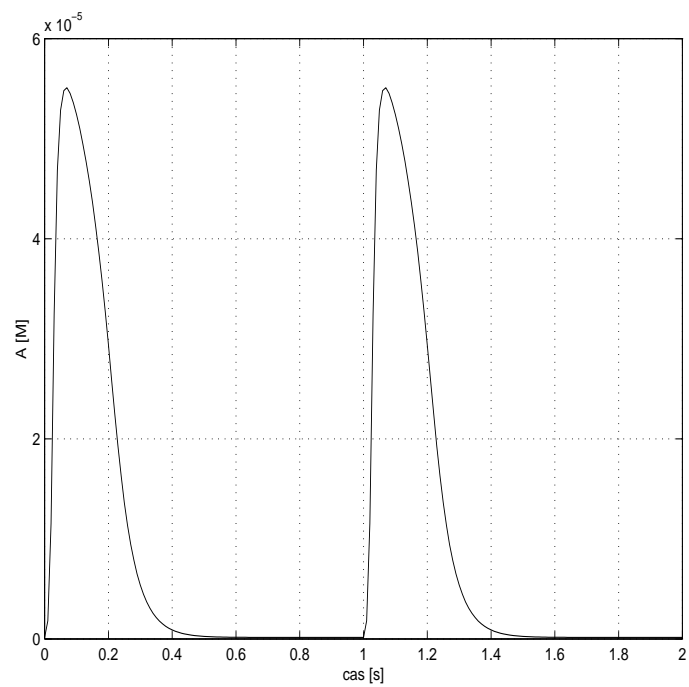
Obrázek 2.17: Množství kalcia v cisterním sark. retikulu $Ca_{CSR}(t)$.



Obrázek 2.18: Množství kalcia v longitudinálním sark. retikulu $Ca_{LSR}(t)$.



Obrázek 2.19: Množství akumulovaného kalcia v mitochondriích $Ca_m(t)$.



Obrázek 2.20: Množství aktivních (odkrytých) míst aktinu $A(t)$.

2.5 Shrnutí a zhodnocení simulace dynamiky kalcia

Uvedená simulace prokázala velmi dobrou shodu s modelem Michailovy (1992) [16]. Grafy zachycující toky kalcíí podle daného článku jsou na obrázku 2.21. Na rozdíl od tohoto článku jsou maximální dosažené hodnoty množství akumulovaných iontů kalcia ve všech kompartmentech vyšší o 15-20%. To lze připsat vlivu mitochondrií, které nejsou v mém modelu (na rozdíl od Michailovy) zanedbány.

Shodu s Wongovým modelem [34] lze verifikovat jen z hlediska tvarového vzhledem k nedostatečné grafické reprezentaci výsledků simulace v uvedeném článku.

Rozdíl je ve tvaru $I_s(t)$, jehož časový průběh je v mém modelu vyhlazen. V obou člancích se v čase $t = 250\text{ ms}$ při buzení modelu obdélníkovým pulsem objevuje tzv. pseudodiracův impuls. Tento rozdíl je podle mého názoru dán zvoleným simulačním nástrojem a na průběh míry akumulace iontů kalcia v jednotlivých kompartmentech nemá významný vliv.

Při buzení modelu akčním potenciálem tvaru skutečného potenciálu má časový průběh pravděpodobnostních funkcí otevření kalciových kanálů $d(t)$, $f(t)$, proudu kalcia $I_s(t)$ a následně i akumulovaných množství iontů Ca^{2+} v jednotlivých kompartmentech vyhlazenější průběh než při buzení akčním potenciálem obdélníkového tvaru.

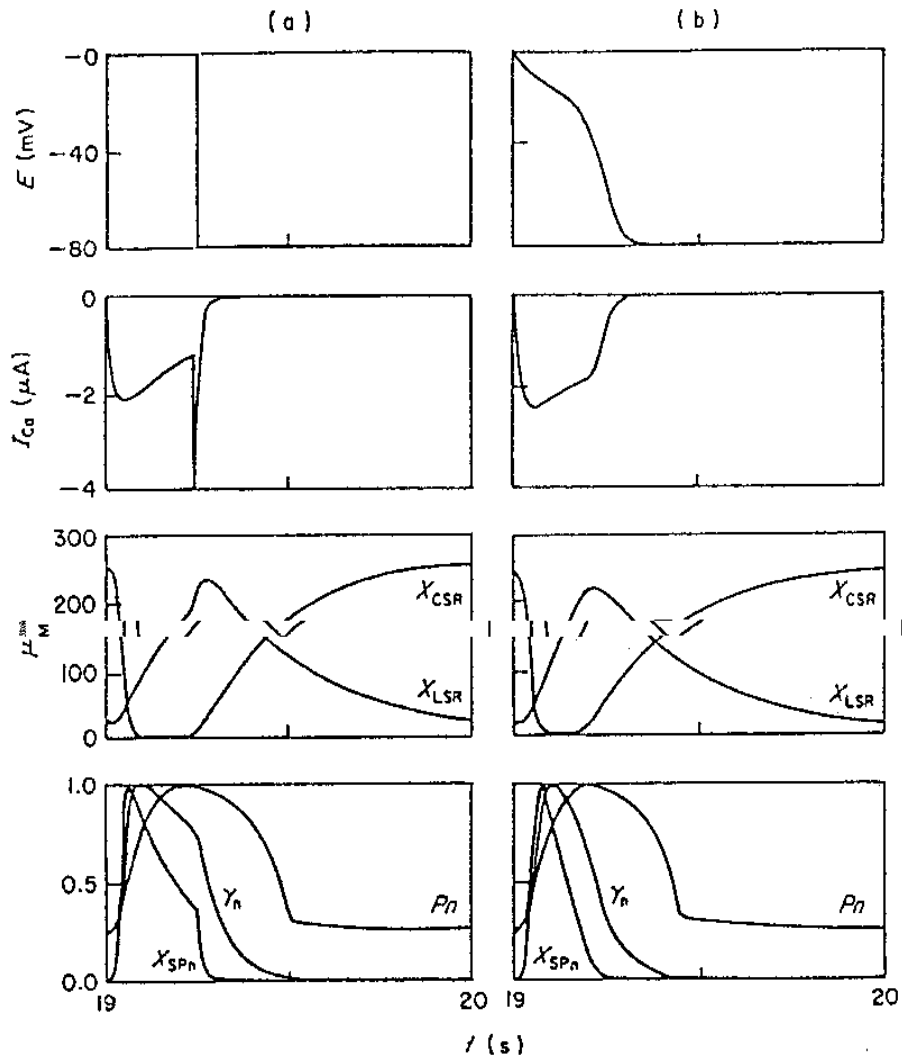
Maxima hodnoty množství iontů akumulovaných v jednotlivých kompartmentech byly v případě buzení umělým akčním potenciálem nižší o přibližně 10%.

Simulace potvrdila, že po depolarizaci buněčné membrány následuje výtok kalcia z cisterního sarkoplasmatického retikula (CSR) do sarkoplasmy a navázání iontů kalcia na regulační bílkovinu troponin C. Maximální hodnoty dosáhne sarkoplasmatické kalcium přibližně po 50 ms po příchodu akčního potenciálu na buněčnou membránu a maximum aktinu je schopno navázání po 75 ms . Poté je kalcium (zř. aktivně) odčerpáváno do longitudinálního sarkoplasmatického retikula (LSR) z něhož je dále přečerpáno (recirkulováno) do CSR. Simulace prokázala, že vliv mitochondrií je ve srovnání s ostatními kompartmenty menší, i když podle mého názoru není zanedbatelný.

Přestože v současné době je tendence modelování spřažení excitace s kontrakcí (excitation-contraction coupling) převážně pomocí tzv. CICR³ modelů (viz. [35]) a tento model je modelem starším, podle mého názoru plně postačuje k popisu základních dějů během cyklu kontrakce srdeční buňky v rozsahu (a v souladu se zadáním) předkládané práce.

Výstupem této části modelu je množství aktivních (tj. odkrytých) míst aktinového filamenta $A(t)$, které jsou schopné interakce s hlavičkami myozinu, jak je popsáno v další části této práce.

³Calcium Induced Calcium Release, tj. kalcíem indukovaný výtok kalcia



Obrázek 2.21: Ustálená odezva modelu dynamiky kalcia dle Michailovy 1992 (viz. [16] str. 102, obr. 4) na: (a) akční potenciál 0 mV , $\tau = 0,25\text{ s}$, (b) Umělý akční potenciál; X_{CSR} , X_{LSR} , X_{SP} představují koncentrace iontů v kompartmentech; γ je množství kalcia navázaného na TnC (resp. tedy množství aktivních míst aktinu $A(t)$); P je isometrické napětí; X_{SPn} , γ_n , P_n jsou normalizované hodnoty X_{SP} , γ , P . Budící frekvence $60/min$.

Kapitola 3

Kontraktilita srdeční buňky

Průběh vzniku a zániku aktino-myosinového komplexu, tj. vytvoření příčného můstku vede ke vzájemnému posuvu obou filament, ke zkrácení sarkomery a k vytvoření napětí, jehož důsledkem je v celkovém pohledu stah srdeční svaloviny a vypuzení krve ze srdce do oběhu. Vznik můstku je popsán rovnicemi



kde A značí aktin, M myosin, AM vytvořený příčný můstek a f, g označují rychlosti reakcí vzniku (navázání), resp. zániku (vyvázání) příčných můstků. Energetické kvantum je dodáváno v podobě vysokoenergetické fosfátové molekuly (adenosintrifosfát, ATP), který je v rovnici značen XP . Rovnice vychází z článku [9] s modifikací uveřejněnou v [32]. Podrobnější popis lze též nalézt v literatuře [5, 19, 23].

3.1 Mechanismus vzniku příčného můstku

Na začátku kontrakce před vznikem příčných můstků se v sarkomeře nacházejí hlavičky myozinu ve svých rovnovážných pozicích v obecné vzdálenosti x od aktinových míst. Z pohledu celé sarkomery můžeme brát rozložení vzdálenosti aktinových míst od rovnovážných pozic myozinu jako rovnoměrné. Po navázání kalcia na troponin C jsou aktivní místa aktinu odkryta a může dojít ke vzniku příčného můstku.

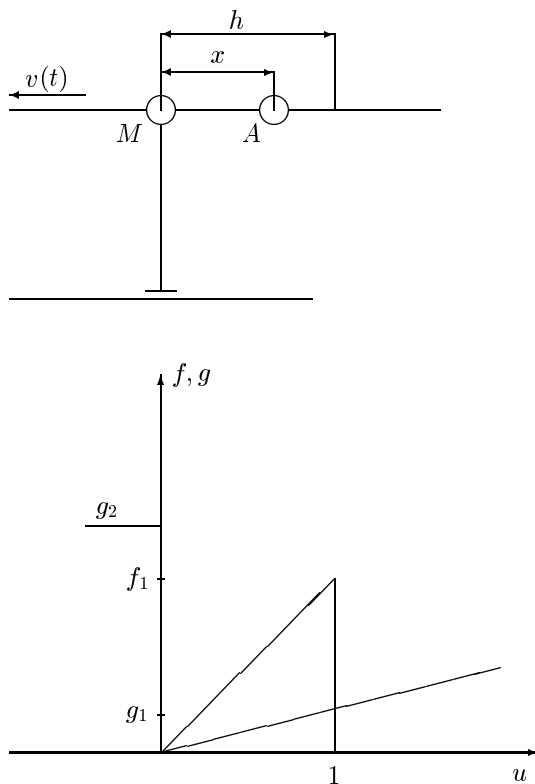
Pro vysvětlení vzniku příčného můstku budeme uvažovat pravou polovinu sarkomery, v níž se aktin pohybuje směrem vlevo relativně vůči poloze myozinu, jak je zachyceno na obrázku 3.2. Vznik a zánik příčných můstků je dán funkcemi f, g , které jsou dány v závislosti na x , tj. na vzdálenosti aktinu od rovnovážné pozice myozinové hlavičky (viz. obrázek 3.1).

Zavedeme poměrnou vzdálenost u podle vztahu

$$u = \frac{x}{h} \quad (3.4)$$

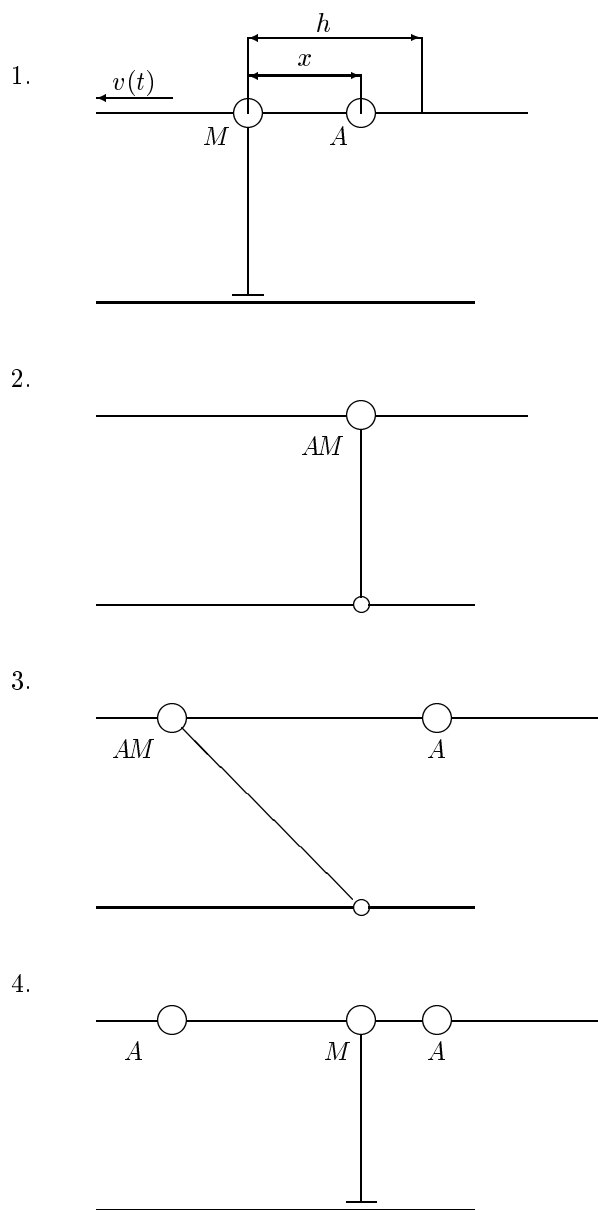
kde h je maximální vzdálenost, při které se hlavička myozinu ještě může navázat na aktivní místo aktinového filamenta. Pak u tedy značí poměrnou vzdálenost rovnovážné polohy hlavičky myozinu a reagujícího místa aktinu.

Jestliže se vazebné místo aktinu ocitne v oblasti, kde je f nenulové je šance, že dojde k jejich kombinaci, tj. ke vzniku příčného můstku a vzniklé napětí bude použito na posun aktinového filamenta vůči myozinu. Vzniklý příčný můstek se pohybuje směrem k rovnovážné pozici myozinu. Vznik příčného můstku je zachycen na obrázku 3.2.



Obrázek 3.1: Vzájemná pozice vazebných míst aktinu a myozinu a jim příslušející rychlost vzniku příčných můstků f, g .

Během každého okamžiku je ale možné, že dojde k rozpojení příčného můstku, díky existenci tzv. slabých spojení příčných můstků (viz. např. [19]). Tato šance je ale malá dokud můstek neprojde rovnovážnou pozicí myozinu. Poté velmi



Obrázek 3.2: Vznik příčného můstku:

1. hlavička myozinu M je v rovnovážné pozici a nachází se ve vzdálenosti x od aktivního místa aktinu A
2. vznik příčného můstku AM (mezi myozinovým filamentem a hlavičkou je úhel 90°)
3. změna konformace příčného můstku (úhel 45°), vzájemný posuv filament
4. uvolnění příčného můstku, zprava přichází další aktivní místo aktinu, schopné vytvoření příčného můstku

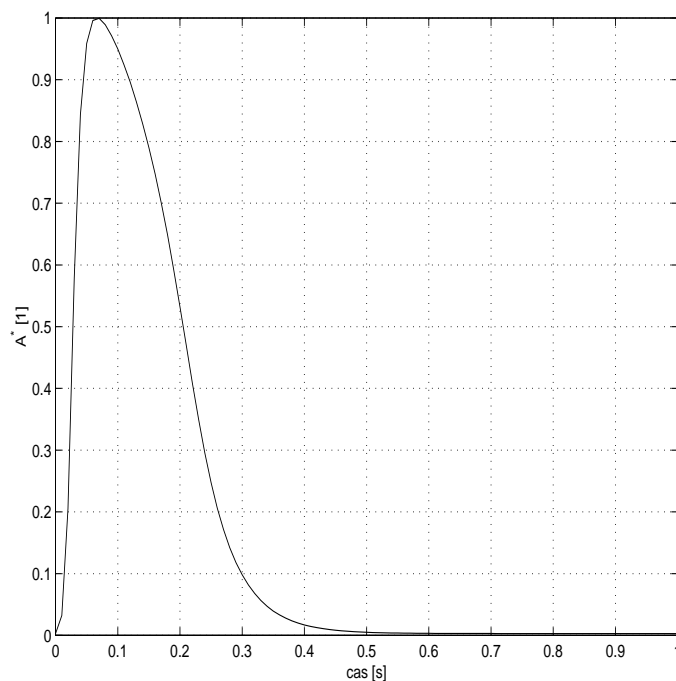
vzrůstá rychlost rozpojování a tedy, aktinomyozinový komplex AM je rychle rozpojen. Jak se sval zkracuje víc, aktinové místo se pohybuje dále doleva, kde se může spojit s další hlavičkou myozinu, zatímco zprava přichází další aktinové místo, které reaguje s hlavičkou myozinu na obrázku 3.2.

Je nutno předpokládat, že popsáný děj se asynchronně odehrává na mnoha místech v sarkomeře, neboť vazebná místa aktinu a myozinu jsou rozložena rovnoměrně. Celkové napětí svalu tedy nebude ovlivněno tím, jak se postupně vytváří a zanikají jednotlivé příčné můstky.

Z popsáného děje je patrné, že se na funkce f a g můžeme dívat jednak jako na rychlosti reakcí vzniku (zániku) příčných můstků, ale z pohledu jedné hlavičky myozinu a jednoho vazebného místa aktinu mohou být chápány také jako pravděpodobnostní funkce vzniku (zániku) příčného můstku.

Funkce f , g jsou dány vztahy:

$$\begin{array}{lll} u < 0 & f(u, t) = 0 & g(u) = g_2 \\ 0 \leq u \leq 1 & f(u, t) = A^*(t)f_1 u & g(u) = g_1 u \\ 1 < u & f(u, t) = 0 & g(u) = g_1 u \end{array} \quad (3.5)$$



Obrázek 3.3: Aktivační funkce $A^*(t)$.

Pomocí $A^*(t)$ je do rovnic pro výpočet rychlostí vzniku a zániku příčných můstků zaveden časový průběh množství aktivních míst aktinového filamenta podle vztahu

$$A^*(t) = \frac{A(t)}{A_{max}(t)} \quad (3.6)$$

ve kterém $A(t)$ představuje množství aktivních míst aktinu a A_{max} příslušnou maximální hodnotu. Pak $A^*(t)$ leží v intervalu $(0, 1)$. Tímto způsobem je do rychlostí reakcí vzniku příčných můstků zanesen vliv časového charakteru množství aktivních míst aktinu, vycházíme-li z předpokladu, že maximální hodnota množství sarkoplazmatického kalcia Ca_{sp} je dostatečná k navázání na všechna místa troponinu C a rychlost reakcí vzniku příčných můstků je ovlivněna pouze časovým charakterem vyplavování kalcia do sarkoplazmy a navazováním na troponin C, jak je popsáno v předchozí kapitole této práce.

Modelování množství vznikajících příčných můstků je probráno v následující kapitole.

3.2 Množství příčných můstků $AM(t)$

3.2.1 Výpočet $AM(t)$ pomocí ODE

Přístupem, který byl původně navržen v práci [9] a dále rozvinut v pracích [11, 16, 32] je modelování pomocí obyčejné diferenciální rovnice (ODE)¹:

$$\frac{\partial AM(u, t)}{\partial t} = (1 - AM(u, t))f(u, t) - AM(u, t)g(u) \quad (3.7)$$

nebo

$$-v(t)\frac{\partial AM(u, t)}{\partial u} = (1 - AM(u, t))f(u, t) - AM(u, t)g(u) \quad (3.8)$$

kde $v(t)$ značí rychlost s jakou se aktinové filamentum pohybuje vůči myozinu.

Pro nalezení množství příčných můstků $AM(u, t)$ jako časově závislé funkce, je výhodné využití rovnice (3.7). Pomocí metody přímek můžeme tuto rovnici převést na soustavu obyčejných diferenciálních rovnic (ODE), jestliže navíc budeme prozatím považovat funkci $f_j(t)$ za časově nezávislou.

$$\frac{dAM_j}{dt} = (1 - AM_j(t))f_j - AM_j(t)g_j \quad (3.9)$$

Analytické řešení lze pro jednu každou ODE odvodit níže uvedeným způsobem. Místo AM budeme pouze pro potřeby odvození a přehlednosti používat v matematice běžnější značení x . Řešíme tedy následující rovnici:

$$\frac{dx(t)}{dt} = (1 - x(t))f - x(t)g \quad (3.10)$$

Tuto rovnici lze přepsat do tvaru

$$x' + (f + g)x = f \quad (3.11)$$

¹Autor si je vědom, že níže uvedená rovnice je rovnicí parciální, ale rozhodl se dodržet rozlišení zavedené v práci [30]. Bylo zavedeno zřejmě z důvodu přechodu na soustavu ODE

Její řešení získáme jako součet homogenního a partikulárního řešení

$$x = x_h + x_p \quad (3.12)$$

Nejprve nalezneme homogenní část řešením charakteristické rovnice

$$\lambda + (f + g) = 0 \quad (3.13)$$

$$\lambda = -(f + g) \quad (3.14)$$

Homogenní část řešení je pak dána rovnicí

$$x_h = C_1 \cdot e^{\lambda t} = C_1 \cdot e^{-(f+g)t} \quad (3.15)$$

Partikulární řešení určíme jednoduchým odhadem ve tvaru

$$x_p = \frac{f}{f + g} \quad (3.16)$$

Celkové řešení pak má tvar

$$x(t) = x_h + x_p = C_1 \cdot e^{-(f+g)t} + \frac{f}{f + g} \quad (3.17)$$

Konstantu C_1 určíme dosazením známých počátečních podmínek

$$x(0) = 0 \quad (3.18)$$

$$0 = C_1 \cdot e^{-(f+g)0} + \frac{f}{f + g} \quad (3.19)$$

pak

$$C_1 = -\frac{f}{f + g} \quad (3.20)$$

celkové řešení pak má tvar

$$x(t) = \frac{f}{f + g} - \frac{f}{(f + g)e^{(f+g)t}} \quad (3.21)$$

Funkce $f(t)$ ovšem není v čase konstantní a také musíme uvažovat pohyb příčných můstků v průběhu zkracování (a zpětného prodlužování) sarkomery. Je tedy nutno řešit tuto rovnici s konečným čas. krokem, během něhož budeme považovat hodnotu f jako konstantní.

$$x(t) = x_0 \quad (3.22)$$

$$x(t + \Delta t) = \frac{f}{f + g} - \frac{f}{(f + g)e^{(f+g)(t+\Delta t)}} = \quad (3.23)$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{f}{f+g} - \frac{f}{(f+g)e^{(f+g)t}e^{(f+g)\Delta t}} = \\
&= \frac{f}{f+g} - \frac{f}{(f+g)e^{(f+g)t}e^{(f+g)\Delta t}} + \frac{f}{(f+g)e^{(f+g)\Delta t}} - \frac{f}{(f+g)e^{(f+g)\Delta t}} = \\
&= \frac{f}{f+g} - \frac{f}{(f+g)e^{(f+g)\Delta t}} - \frac{1}{e^{(f+g)\Delta t}} \underbrace{\left[\frac{f}{f+g} - \frac{f}{(f+g)e^{(f+g)t}} \right]}_{x_0} = \\
&= \frac{f}{f+g} - \frac{f}{(f+g)e^{(f+g)\Delta t}} - \frac{x_0}{e^{(f+g)\Delta t}} = \\
&= \frac{f}{f+g} - \frac{f - (f+g)x_0}{(f+g)e^{(f+g)\Delta t}}
\end{aligned}$$

Po zpětném formálním dosazení dostáváme pro hledané množství příčných můsteků AM rovnice

$$AM_{i-1,j} = AM_{0i,j} \quad (3.24)$$

$$AM_{i,j} = \frac{f_{i,j}}{f_{i,j} + g_j} - \frac{f_{i,j} - (f_{i,j} + g_j)AM_{0i,j}}{(f_{i,j} + g_j)e^{(f_{i,j} + g_j)\Delta t}} \quad (3.25)$$

Odvozené analytické řešení na jednotlivých intervalech je shodné s řešením uveřejněným v pracích Juliana a Wonga [11, 32]) a po dosazení funkcí f, g (resp. konstant $f_{i,j}, g_j$) lze řešení na třech intervalech zapsat ve tvaru:

1. $-\infty < u < 0$:

$$AM_{i,j} = AM_{0i,j} \exp(-g_j \Delta t) \quad (3.26)$$

2. $0 \leq u \leq 1$:

$$AM_{i,j} = \frac{f_{i,j}}{f_{i,j} + g_j} - \frac{f_{i,j} - (f_{i,j} + g_j)AM_{0i,j}}{(f_{i,j} + g_j) \exp[(f_{i,j} + g_j)\Delta t]} \quad (3.27)$$

3. $1 < u < \infty$:

$$AM_{i,j} = AM_{0i,j} \exp(-g_j \Delta t) \quad (3.28)$$

V těchto rovnicích $AM_{0i,j}$ představuje počáteční hodnotu $AM_{i,j}$ daného časového kroku t_i .

3.2.2 Výpočet $AM(t)$ pomocí PDE

Druhým přístupem je použití jedné parciální diferenciální rovnice (PDE), jak bylo navrženo v některých pozdějších pracích [12, 30, 31]:

$$\frac{\partial AM(u, t)}{\partial t} - v(t) \frac{\partial AM(u, t)}{\partial u} = (A^*(t) - AM(u, t))f(u) - AM(u, t)g(u) \quad (3.29)$$

Tuto rovnici je možno řešit klasickou metodou konečných diferencí, při které jsou parciální derivace nahrazeny vztahy

$$\frac{\partial AM_{i,j}}{\partial t} = \frac{AM_{i,j} - AM_{i-1,j}}{\Delta t} \quad (3.30)$$

$$\frac{\partial AM_{i,j}}{\partial u} = \frac{AM_{i,j+1} - AM_{i,j}}{\Delta u} \quad (3.31)$$

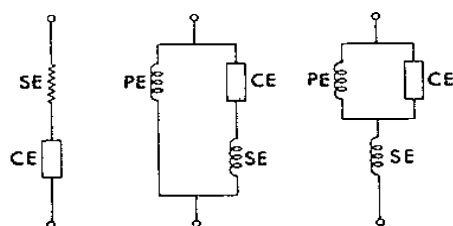
V rovnicích je zápis $AM(t_i, u_j)$ nahrazen schematictějším zápisem $AM_{i,j}$.

Oba tyto možné přístupy byly podrobně rozebrány v práci Taylor et al. [30]. Z této práce vyplývá, že řešení se v závislosti na zvoleném typu diferenciální rovnice (ODE nebo PDE) liší o 15 až 25 % a že oba dva způsoby poskytují dobrou shodu s experimentálně zjištěnými daty.

Z tohoto důvodu je množství vznikajících příčných můstek $AM(t)$ v předkládané práci řešena pouze pomocí metody přímek, tj. přechodu na soustavu obyčejných rovnic prvního řádu (ODE).

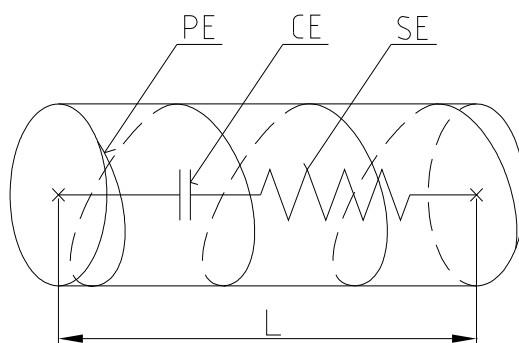
3.3 Model srdečního svalu

V literatuře lze nalézt poměrně značné množství přístupů k modelování vlastností svalů jak kosterních, tak i srdečních. Základní představu přinesl Hill, který poprvé uveřejnil svou představu spojení seriového členu SE s kontraktilním CE v práci [8]. Později bylo experimentálně zjištěno, že sval má jisté klidové napětí (tonus), a proto byl ke dvěma seriově řazeným členům přiřazen člen paralelní PE. Problémem ovšem je, že paralelní člen může být začleněn dvěma způsoby. Tím vznikly základní tři modely svalu zachycené obrázkem 3.4.



Obrázek 3.4: Základní typy mechanických modelů svalu: vlevo - Hill původní; uprostřed - Hill, Maxwell; vpravo - Voight.

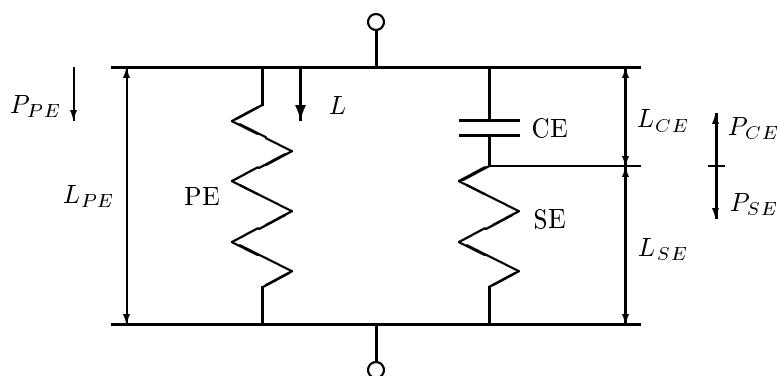
V literatuře lze nalézt jejich srovnání (např. [2, 18]). Ze závěrů je ovšem těžké rozhodnout, který model je více korektní. Ve skutečnosti podrobná analýza a další experimenty ukázaly, že pokud bychom se snažili popsat vlastnosti svalu co nejpřesněji, pouhé tři členy nám k tomu nepostačují. Tak vznikla další řada modelů, které se snažily o přesnější popis svalu (viz. např. [21, 24, 25]). Tyto modely jsou založeny především na dalším začleňování seriových a paralelních členů k základním třem členům, což sice vede k jistému zpřesnění, nicméně na druhé straně jsou tyto modely složitější a hlavně více závislé na zvoleném typu experimentu pro správnou identifikaci jednotlivých členů.²



Obrázek 3.5: Představa prostorového uspořádání základních členů modelu sarkomery.

²Ve skutečnosti je totiž sval pochopitelně jeden celek a tudíž jeho členění je pouze myšlené.

Vzhledem k tomu, že cílem této práce není co nejuvěrnější popis svalu, ale vysvětlení vztahu spřežení excitace s kontrakcí je modelování mechanických vlastností srdečního svalu založeno na základním tříkomponentovém modelu kosterčního svalu dle Hilla. Vytvořená představa modelu morfologické struktury svalu podle tohoto modelu je na obrázku 3.5. Vzhledem k tomu, že sarkomera srdečního svalu se nijak významně ve své struktuře neliší od sarkomery svalu příčně pruhozaného, může být Hillův model vhodným východiskem i pro modelování srdečního svalu. Vzhledem k zažitému zobrazování modelu svalu v literatuře je používaný mechanický model zachycen obrázkem 3.6³.



Obrázek 3.6: Model svalu dle Hilla.

Napětí paralelního elastického elementu P_{PE} je nelineární (exponenciální) funkcí celkové délky svalu. Přispívá ke klidovému napětí svalu, které vytvářejí bílkovinné struktury obalující sarkomeru. Do paralelního napětí je také zahrnován vliv bílkoviny zvané titin, která vystřeďuje v sarkomeře vlákno myozinu vůči vláknům aktinu. Během isometrické kontrakce je $L_{PE} = L_{max} - L_0$ a nemění se. Délka L_{max} je délkou, při které je vyvinuté isometrické napětí maximální a L_0 je klidová délka svalu. Napětí PE členu je dáno rovnicí

$$P_{PE} = P_0(\exp(k_p L_{PE}) - 1) \quad (3.32)$$

Napětí na sériově elastickém elementu P_{SE} je obdobně jako napětí P_{PE} exponenciální funkcí délky. Člen SE je zapojen v sérii s kontraktilním elementem a je mu připisováno napětí nekontraktilních částí srdeční svalové buňky, tedy šlachy, která je zařazena v sérii se sarkomerou (ev. sarkomerami). Je tedy pasivním členem, který je během kontrakce natahován zkracujícím se kontraktilním

³Vzhledem k tomu, že člen PE je v klidu předeprnut, autor si je vědom, že pojem mechanický model by měl být spíše v uvozovkách.

členem CE. Během isometrické kontrakce platí rovnost $P_L = P_{PE}$ pro předpětí seriově-elastického elementu (viz. Wong 1971 [32] str. 533)

$$P_{SE} = P_L(\exp(k_s L_{SE}) - 1) \quad (3.33)$$

Kontraktilní element CE je v klidu možno libovolně prodloužit. Po aktivaci se však vznikem příčných můstků zkracuje a vyvíjí napětí P_{CE} , které je přímo úměrné počtu vzniklých příčných můstků. Je aktivním kontraktilním elementem. Jeho napětí je úměrné integrálu momentu (tedy $AM \cdot u$) distribuční funkce množství příčných můstků AM vůči rovnovážné poloze hlaviček myozinu, tj. celkovému momentu spojených příčných můstků AM a tedy

$$P_{CE}(t) = \int_{-\infty}^{\infty} k_m AM(u, t) u du \quad (3.34)$$

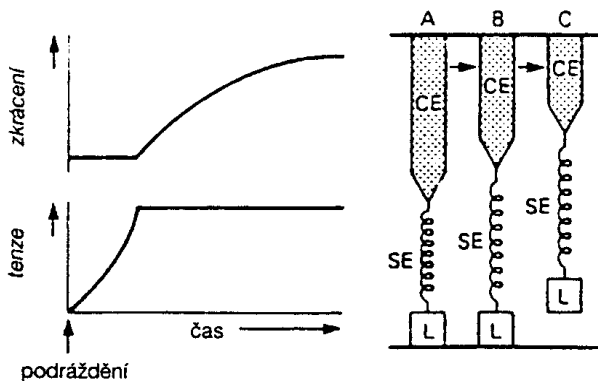
Tuhost K_{CE} tohoto elementu je brána jako okamžitá tuhost všech spojených příčných můstků

$$K_{CE}(t) = k_m \int_{-\infty}^{\infty} AM(u, t) du \quad (3.35)$$

Celkové napětí svalu P je pak dáno vztahem

$$P = P_{PE} + P_{SE} \quad (3.36)$$

který kombinuje tenzi paralelního elastického elementu P_{PE} s tenzí seriového elastického členu P_{SE} .



Obrázek 3.7: Typy kontrakce svalu (originální Hillův model bez PE členu)
A - nezatížený sval, B - isometrická kontrakce, C - isotonická kontrakce.

Existují dva typy kontrakce svalu. Jsou zachyceny obrázkem 3.7. Počáteční fáze kontrakce svalu je vždy isometrická (resp. izovolumická, podrobněji viz. [5]). Během této části dochází k růstu tlaku krve v srdci, ale chlopně zůstávají uzavřeny. Seriově elastický člen se protahuje až do stavu, kdy překoná sílu předpětí (preload) a sílu dopětí (afterload). Prakticky to znamená, že tlak krve v srdci překoná tlak krve v aortě, chlopně se otevírají a dochází ke kontrakci isotonické, tj. sval se zkracuje bez dalšího růstu napětí.

3.4 Energetická náročnost cyklu kontrakce

Pro kontrakci srdeční buňky je základním požadavkem, kromě dostatečného množství kalcia, dodání dostatečného množství energie v podobě vysokoenergetických fosfátových molekul (nejčastěji ATP). Tato energie je zajišťována ze tří základních zdrojů: bazálního metabolismu, spřažení excitace s kontrakcí, a konečně hydrolýzou ATP. Podrobnější popis a rozbor lze nalézt v literatuře (viz. [31]).

Energetická potřeba cyklu vzniku a zániku příčných můstků během určitého časového intervalu je modelována následující rovnicí

$$E_{ATP} = \frac{1}{T} \int_0^{t_c} \int_{-\infty}^{\infty} g(u) AM(u, t) du dt \quad (3.37)$$

V této rovnici vycházíme z obecně přijaté úvahy, že dodaná energie se nevyužívá přímo při vzniku příčného můstku, ale je nutná k jeho zániku. Spotřebu energie je pak možno vyjádřit jako integrál rychlosti zániku příčných můstků a jejich okamžitého množství za časový okamžik T , který představuje dobu cyklu, tj. periodu kontrakce srdečního svalu.

3.5 Isometrická kontrakce

Během isometrické kontrakce nedochází k celkovému zkrácení svalu, ale dochází pouze ke zkrácení kontraktilního členu CE a jemu odpovídajícímu prodloužení SE členu podle vztahu

$$\Delta L_{CE} = \Delta L_{SE} \quad (3.38)$$

Zkrácení kontraktilního elementu může být určeno z podmínky rovnováhy vektorů sil

$$\vec{P}_{CE} + \vec{P}_{SE} = 0 \quad (3.39)$$

skalárně pak

$$P_{CE} - P_{SE} = 0 \quad (3.40)$$

resp.

$$P_{CE} = P_{SE} \quad (3.41)$$

Zkrácení sarkomery v jednotlivých časových krocích určíme pomocí rozvoje P_{CE} a P_{SE} v Taylorovu řadu, v níž zanedbáme členy druhého a vyšších řádů

$$P_{CE}(L - \Delta L) = P_{CE}(L) - \frac{dP_{CE}}{d\Delta L} \Delta L \quad (3.42)$$

$$P_{SE}(L + \Delta L) = P_{SE}(L) + \frac{dP_{SE}}{d\Delta L} \Delta L \quad (3.43)$$

derivace $dP_{CE}/d\Delta L$, $dP_{SE}/d\Delta L$ určují tuhosti elementů

$$\frac{dP_{CE}}{d\Delta L} = K_{CE} \quad (3.44)$$

$$\frac{dP_{SE}}{d\Delta L} = K_{SE} \quad (3.45)$$

Po dosazení do rovnice rovnováhy dostáváme

$$P_{CE} - K_{CE}\Delta L = P_{SE} + K_{SE}\Delta L \quad (3.46)$$

a ev. po úpravě

$$\Delta L = \frac{P_{CE} - P_{SE}}{K_{CE} + K_{SE}} \quad (3.47)$$

Změna délky ΔL je dána touto rovnicí rovnováhy, kterou je nutno upravit do tvaru vhodného pro řešení nelineární rovnic typu $f(x) = 0$ následujícím způsobem

$$P_{CE} - P_{SE} - \Delta L K_{CE} - \Delta L K_{SE} = 0 \quad (3.48)$$

po dosazení dříve uvedené rovnice pro P_{SE} a odvození vztahu pro K_{SE}

$$K_{SE} = k_s(P_{SE} + P_L) = k_s(P_L(e^{k_s L_{SE}} - 1) + P_L) \quad (3.49)$$

dostáváme rovnici ve tvaru $f(\Delta L) = 0$ se dvěma parametry (časovými proměnnými) P_{CE} , K_{CE} v následujícím tvaru

$$P_{CE} - P_L(e^{k_s L_{SE}} - 1) - \Delta L K_{CE} - \Delta L k_s(P_L(e^{k_s L_{SE}} - 1) + P_L) = 0 \quad (3.50)$$

Přičemž v této rovnici ΔL v podstatě představuje rozdíl v délce členu SE aktuálního a minulého časového kroku Δt , tj.

$$\Delta L_{SE} = L_{SE,i} - L_{SE,i-1} \quad (3.51)$$

Po vyřešení této nelineární rovnice numerickou metodou (k výpočtu bylo využito funkce Matlabu **fzero**) je možno na základě znalosti zkrácení sarkomery o ΔL zpětně dosadit do vztahů pro výpočet P_{SE} a K_{SE} a následně vypočítat celkové napětí během isometrické kontrakce P .

3.6 Isotonická kontrakce

Isotonická kontrakce následuje po kontrakci isometrické. Podmínkou přechodu mezi typy kontrakce je, že srdeční sval překoná sílu tzv. předpětí (preload) P_L a dopětí (afterload) P_A , které je dáno tlakem krve v aortě, který působí proti tlaku krve v srdci. Jakmile tedy sval dosáhne napětí

$$P = P_L + P_A \quad (3.52)$$

svalové vlákno se začne isotonicky zkracovat. To znamená, že kontraktilní člen CE se dále zkracuje. Jeho zkrácení můžeme určit podle vztahu

$$\Delta L_{CE} = \frac{P_{CE} - P_{SE}}{K_{CE} + K_{SE}} \quad (3.53)$$

Člen SE je natahován, ale jeho prodloužení je částečně kompenzováno zkracováním členu PE a tím v podstatě celého vlákna tak, aby celkové napětí vlákna P zůstalo konstantní. Během isotonické kontrakce tedy platí

$$P = P_M = P_{PE} + P_{SE} = konst. \quad (3.54)$$

resp.

$$P_{PE} + P_{SE} - P_M = 0 \quad (3.55)$$

Pomocí Taylorova rozvoje můžeme vyjádřit natahování a zkracování jednotlivých členů

$$\begin{aligned} P_{PE}(L - \Delta L) &= P_{PE}(L) - K_{PE}\Delta L_{PE} \\ P_{CE}(L - \Delta L) &= P_{CE}(L) - K_{CE}\Delta L_{CE} \\ P_{SE}(L + \Delta L) &= P_{SE}(L) + K_{SE}\Delta L_{SE} \end{aligned} \quad (3.56)$$

Dosazením těchto vztahů do rovnice 3.55 získáme

$$\begin{aligned} P_{PE} - K_{PE}\Delta L_{PE} + P_{SE} + K_{SE}\Delta L_{SE} - P_M &= 0 \\ \underbrace{P_{PE} + P_{SE} - P_M}_0 + K_{SE}\Delta L_{SE} &= K_{PE}\Delta L_{PE} \end{aligned} \quad (3.57)$$

Tento vztah formálně upravíme přičtením $\Delta L_{PE}K_{SE}$ na obě strany

$$K_{SE}\Delta L_{PE} + K_{PE}\Delta L_{PE} = K_{SE}\Delta L_{PE} + K_{SE}\Delta L_{SE} \quad (3.58)$$

a dále vytknutím ΔL_{PE} , K_{SE}

$$\Delta L_{PE}(K_{SE} + K_{PE}) = K_{SE}(\Delta L_{PE} + \Delta L_{SE}) \quad (3.59)$$

Členy PE a CE se zkracují a člen SE se natahuje. Pro prodloužení jednotlivých členů musí platit rovnost

$$-\Delta L_{PE} = -\Delta L_{CE} + \Delta L_{SE} \quad (3.60)$$

ze kterého plyne vztah pro prodloužení členu CE jako

$$\Delta L_{CE} = \Delta L_{PE} + \Delta L_{SE} \quad (3.61)$$

Po dosazení do rovnice 3.59 dostáváme vztah

$$\Delta L_{PE}(K_{SE} + K_{PE}) = K_{SE}\Delta L_{CE} \quad (3.62)$$

který můžeme dále upravit

$$\Delta L_{PE} = \frac{K_{SE}\Delta L_{CE}}{K_{SE} + K_{PE}} \cdot \frac{\frac{1}{K_{SE}}}{\frac{1}{K_{SE}}} \quad (3.63)$$

na konečný vztah pro zkrácení členu PE

$$\Delta L_{PE} = \frac{\Delta L_{CE}}{1 + \frac{K_{PE}}{K_{SE}}} \quad (3.64)$$

Tuhosti K_{SE} , K_{PE} lze odvodit derivacemi napětí podle prodloužení, způsobem uvedeným v části věnované isometrické kontrakci. Po odvození získáme následující vztahy

$$K_{SE} = k_s(P_{SE} + P_L) \quad (3.65)$$

$$K_{PE} = k_p(P_{PE} + P_0) \quad (3.66)$$

po jejichž dosazení do rovnice 3.64 můžeme vypočítat velikost zkrácení členu PE a tím v podstatě celkové zkrácení srdeční buňky.

3.7 Návrh řešení a volba konstant modelu

Pro danou úlohu výpočtu kontrakce srdeční buňky byl vytvořen program pomocí simulačního prostředí Matlab pro vyšetření časového průběhu množství příčných můstků AM , výpočet napětí a zkrácení jednotlivých členů podle typu kontrakce.

Úloha byla řešena s časovým krokem $\Delta t = 0,01 s$ (v programu značeno DT), dobou simulace (periodou srdečního cyklu) $T = 1 s$.

V použitém algoritmu byla oblast integrace $(-\infty, \infty)$ zúžena na interval $(A, B) : u \in \langle -2,3 \rangle$, v němž může dojít ke vzniku příčného můstku s tím, že pro $u < A$ a nebo $u > B$ je vždy rychlost vzniku příčného můstku $f(u, t) = 0$ vzhledem k omezující vzdálenosti h . Mimo interval $u \in (0, 1)$ tedy může dojít pouze k zániku příčného můstku.

Tento původně spojitý interval bylo nutno diskretizovat a výpočty změn množství $AM(u, t)$ pak provádět v diskretních bodech u_j na výše uvedené oblasti s krokem $\Delta u = 0,1h$ (v programu značeno DU).

Jako vstupu do modelu jsem použil koncentrace aktinových míst $A(t)$, normované maximální hodnotou koncentrace aktinových míst A_{max} , tj. funkci $A^*(t)$ podle grafu 3.3.

Okrajová podmínka v čase $t = 0$ je $AM(u, 0) = 0$, $P_{SE}(0) = 0$, $P_{CE}(0) = 0$. Hodnota $AM_0(u, t)$ představuje počáteční podmínku daného časového kroku a tou je konečná hodnota $AM(u, t)$ předchozího časového kroku s korekcí o ΔL_{CE} , neboť je nutno uvažovat pohyb příčných můstků spolu se zkracováním kontraktilního elementu CE.

Při volbě konstant mechanického modelu jsem vycházel ze stejných předpokladů jako Panerai (1980) v práci [20]:

1. Klidové napětí svalu je přibližně nulové, když je sval zkrácen přibližně o 25% z původní délky L_{max} (viz. [24]).
2. Při dosažení maxima isometrického napětí je zkrácení sarkomery přibližně 8% délky L_{max} (viz. [14, 10]).
3. Při počáteční délce svalu $L(0) = L_{max}$ je předpětí rovno 12% maxima isometrického napětí (viz. [7]).
4. Podrobná experimentální analýza srdečního svalu prokázala rovnost konstant $k_p = k_s$ (viz. [6]).

Na základě těchto předpokladů jsem odvodil konstanty použité v modelu. Přehled použitých konstant modelu kontrakce je uveden v tabulce 3.1.

Velikost konstanty charakterizující tuhost příčného můstku k_m jsem zvolil tak, aby maximální dosažená hodnota napětí isometrické kontrakce byla rovna $P_{max} = 1$. Pracuji tak s poměrnými hodnotami napětí. Proto je třeba konstantu P_0 považovat za bezrozměrnou charakteristiku členu PE. Podobně také hodnotu funkce P_L , charakterizující předpětí členu SE, je třeba považovat za bezrozměrnou.

Tabulka 3.1: Konstanty použité v modelu kontraktility.

f_1	133,5	s^{-1}
g_1	21,5	s^{-1}
g_2	229,0	s^{-1}
h	130	Å
k_p	12,05	μm^{-1}
k_s	12,05	μm^{-1}
L_{max}	2,2	μm
L_0	1,67	μm
P_0	0,0002024	–
P_L	P_{PE}	–
k_m	2,32	–

Program pracuje následovně:

- **Isometrická kontrakce** - Řešením nelineární rovnice 3.50 vypočteme zkrácení kontraktálního elementu (sarkomery) ΔL_{CE} , které je rovno prodloužení SE členu, ΔL_{SE} . Pak provedeme zpětný výpočet napětí P_{SE} , tuhosti K_{SE} a napětí P_{PE} , které je v této fázi kontrakce konstantní a konečně celkového napětí P během isometrické kontrakce.
- **Isotonická kontrakce** - Nejprve vypočteme zkrácení L_{CE} kontraktálního členu. Připravíme tuhosti K_{PE} , K_{SE} z důvodů řešitelnosti pomocí velikostí příslušných napětí minulého časového kroku. Pomocí těchto tuhostí hledáme zkrácení L_{PE} pomocí vztahu 3.64. Poté můžeme spočítat napětí P_{PE} . Dosazením do rovnice 3.55 dopočítáme napětí P_{SE} , vzhledem k podmínce, že P_M je během isotonické kontrakce konstantní. Z rovnice 3.60 pak dopočítáme zkrácení členu SE.

Pro výpočet v obou fázích kontrakce platí, že ΔL je prodloužení (ev. zkrácení) jednotlivých členů, tzn. pro každý člen je rovno rozdílu celkové délky současného a minulého kroku

$$\Delta L = L_i - L_{i-1} \quad (3.67)$$

jak už bylo naznačeno rovnicí 3.51. Pro simulaci obou typů kontrakce byl použit stejný program jen s tím rozdílem, že pro simulaci isometrické kontrakce se nastavila hodnota dopětí P_A na hodnotu vyšší než 1.

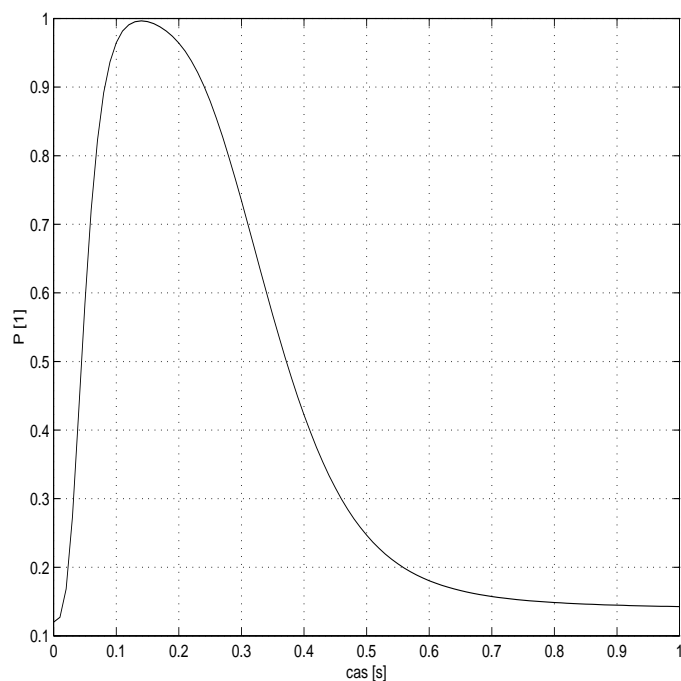
3.8 Simulace modelu kontrakce

3.8.1 Simulace isometrické kontrakce

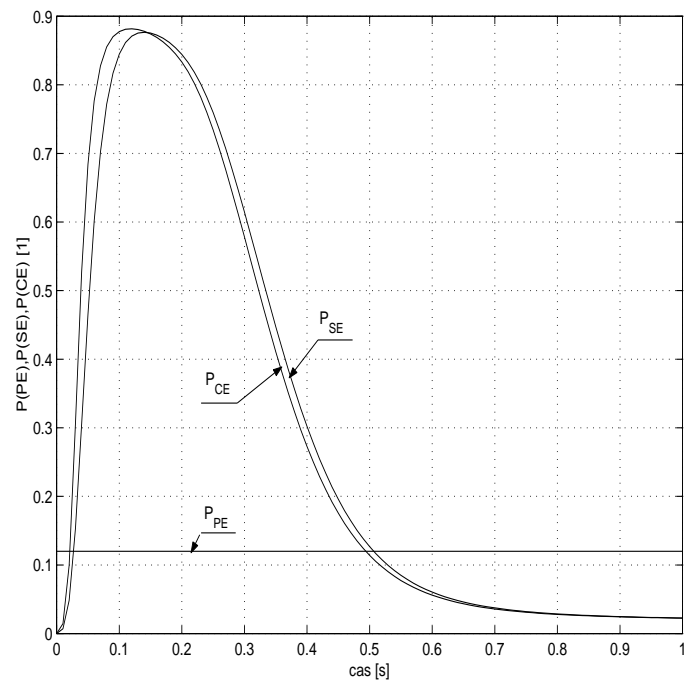
Dosažené napětí a zkrácení (resp. prodloužení) elementů CE, SE během cyklu isometrické kontrakce je na následujících grafech. Během isometrické kontrakce dochází ke změnám napětí a délek pouze u členů CE, SE. Délka ani napětí paralelně elastického členu PE se nemění, tj. zůstává konstatní.

Z grafu celkového napětí P je patrné, že maximální hodnoty dosáhne napětí během isometrické kontrakce po 150 ms . Pro napětí elementů CE, SE platí, že zpočátku prudce vzrůstá napětí CE členu, které natahuje člen SE. Hodnoty napětí se vyrovnají po 150 ms , tedy v okamžiku maximální hodnoty celkového napětí. Poté dochází k poklesu napětí členu CE a to způsobuje postupné odlehčování členu SE, které je samozřejmě doprovázeno jeho zkracováním.

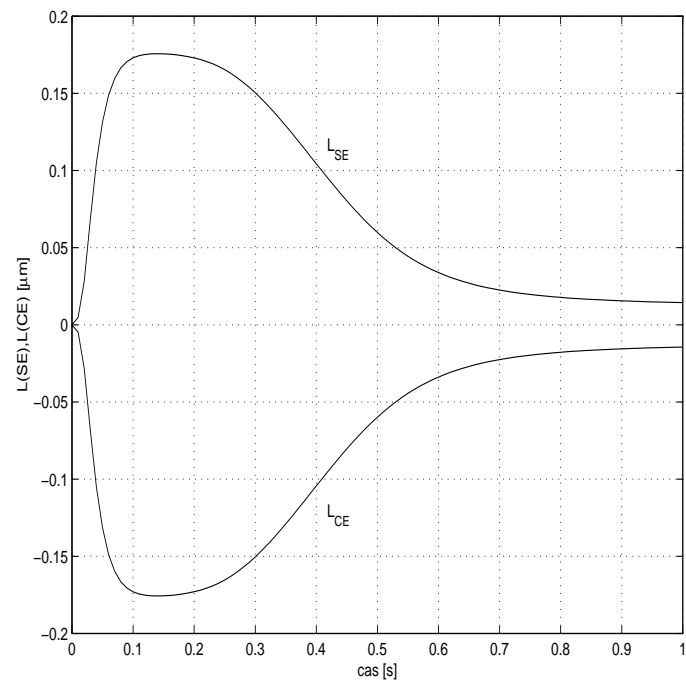
Pro prodloužení SE členu během isometrické kontrakce platí, že je rovno zkrácení CE členu, tj. mají stejné hodnoty, jen opačné znaménko.



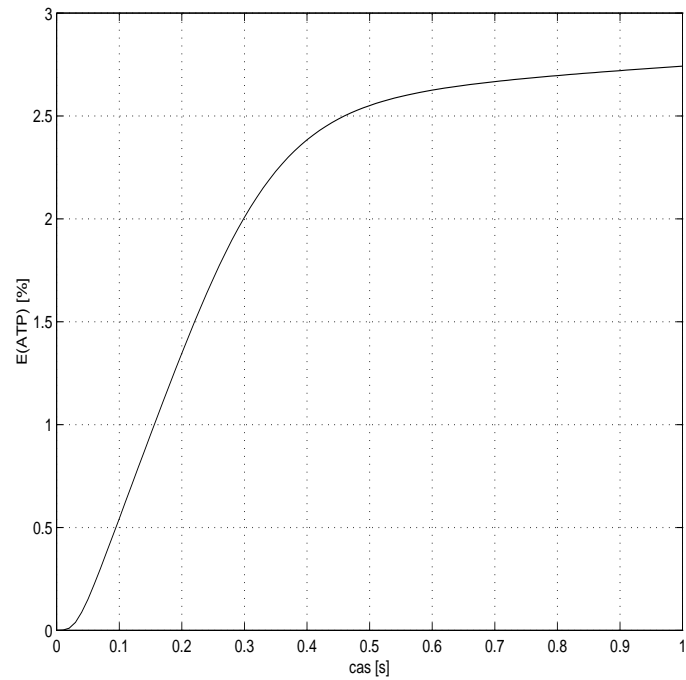
Obrázek 3.8: Celkové napětí během isometrické kontrakce.



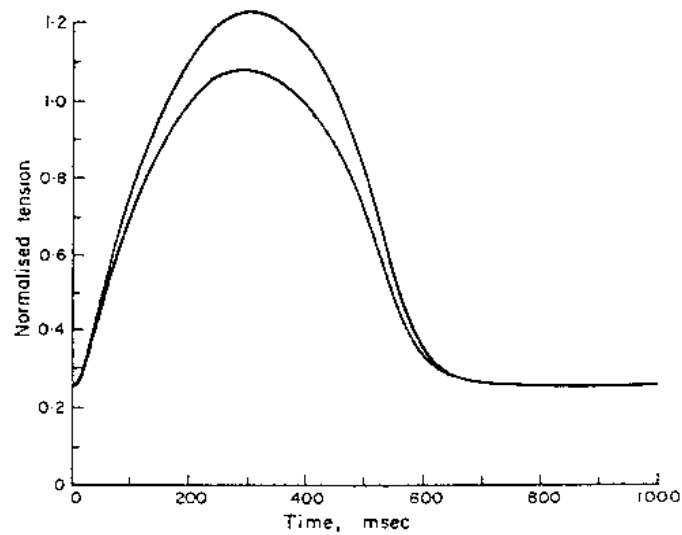
Obrázek 3.9: Napětí jednotlivých členů během isometrické kontrakce.



Obrázek 3.10: Prodloužení SE a zkrácení CE členů.



Obrázek 3.11: Energetická náročnost (spotřeba ATP).



Obrázek 3.12: Celkové napětí během isometrické kontrakce modelu Wonga (1971) (viz. [32] str. 535, obr. 5).

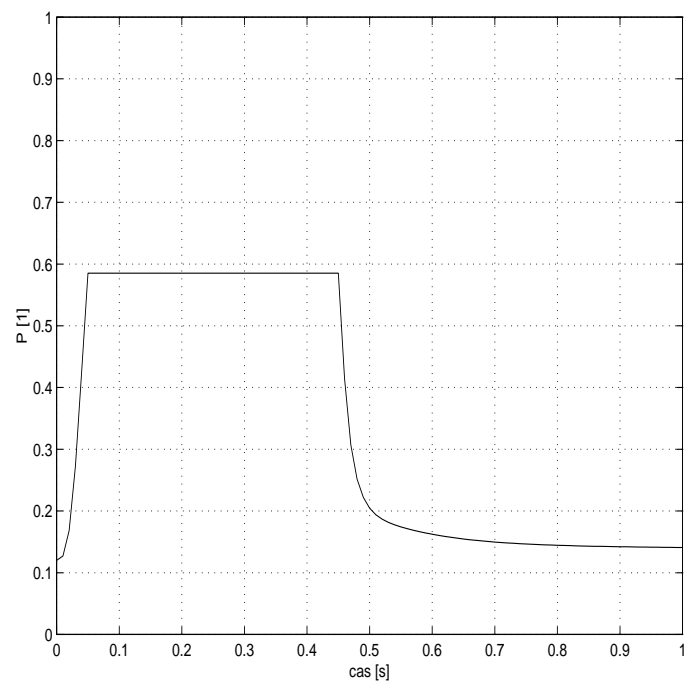
3.8.2 Simulace isotonické kontrakce

Isotonická kontrakce byla simulována pro tři různé hodnoty dopětí P_A , tj. napětí působícímu proti kontrakci tlakem krve v aortě.

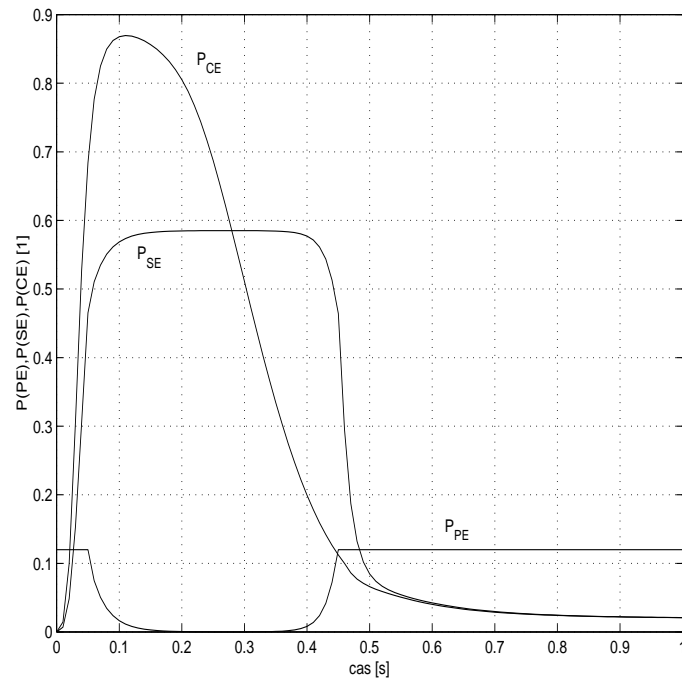
1. Simulace s dopětím $P_A = 0,46$.

Hodnota celkového napětí během této kontrakce je $P = 0,58$. Vzhledem k relativně nízké hodnotě dopětí dochází k přechodu z fáze isometrické do fáze isotonické v čase 50 ms a ke zpětnému přechodu do isometrické fáze až v čase 450 ms .

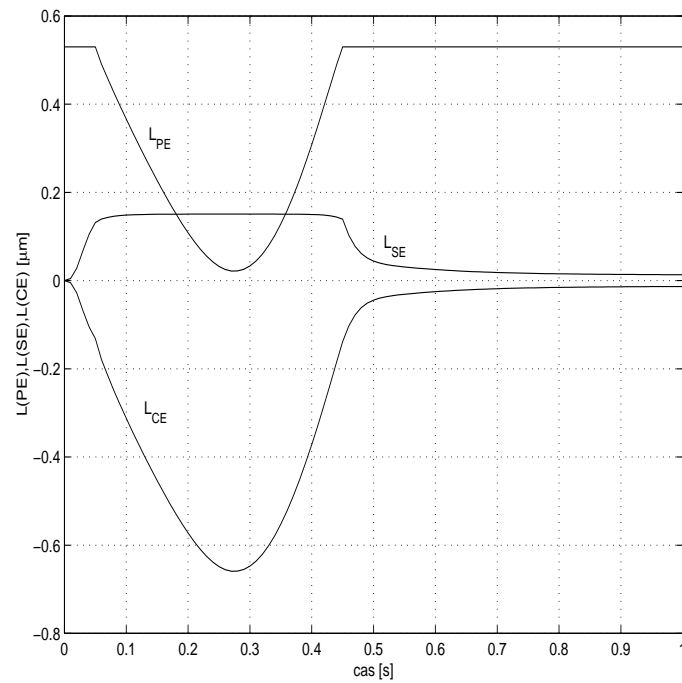
Zkrácení buňky je tedy poměrně velké. Buňka se zkrátí z počáteční hodnoty $L_{max} = 2,2\ \mu\text{m}$ až na hodnotu $L = 1,69\ \mu\text{m}$ v čase 280 ms .



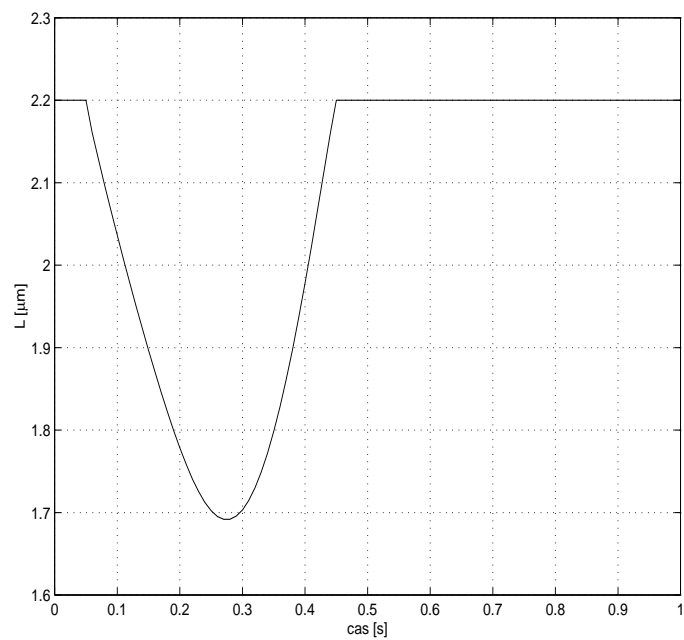
Obrázek 3.13: Celkové napětí během isotonické kontrakce.



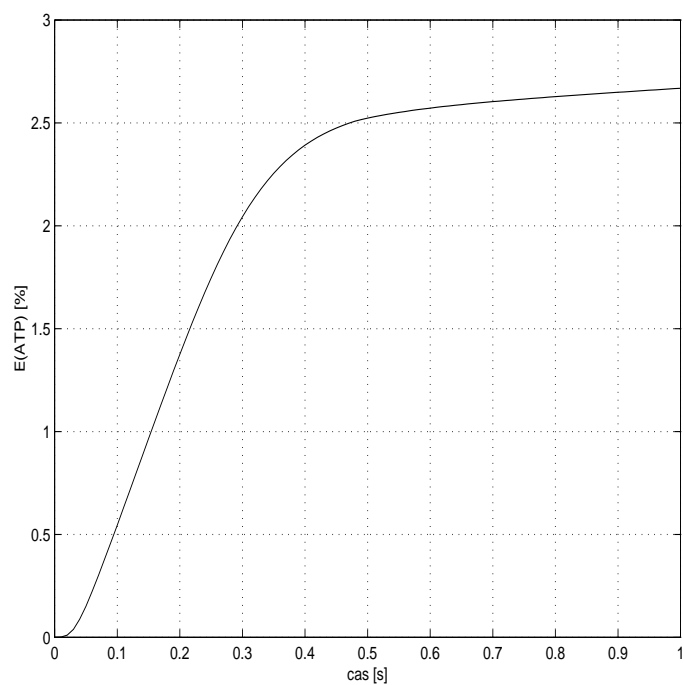
Obrázek 3.14: Napětí jednotlivých členů během isotonické kontrakce.



Obrázek 3.15: Prodloužení (zkrácení) jednotlivých členů.



Obrázek 3.16: Celkové zkrácení buňky během isotonické kontrakce.

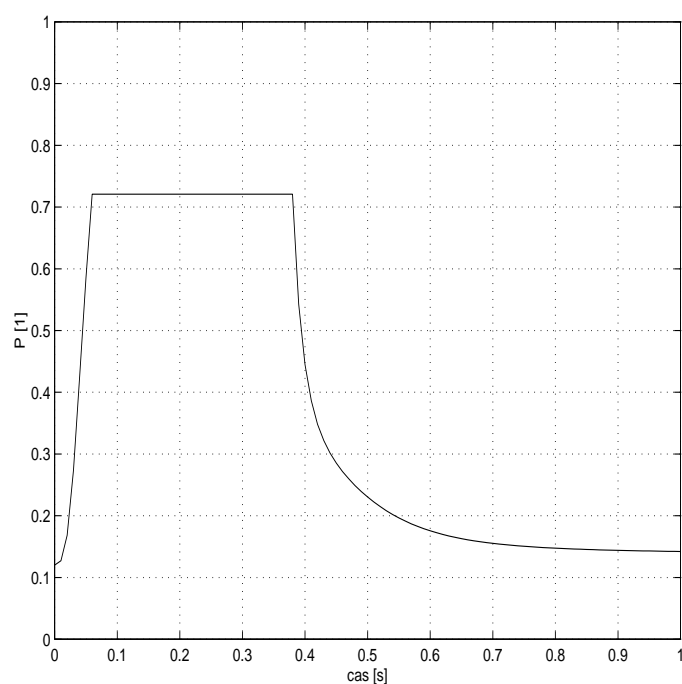


Obrázek 3.17: Energetická náročnost (spotřeba ATP).

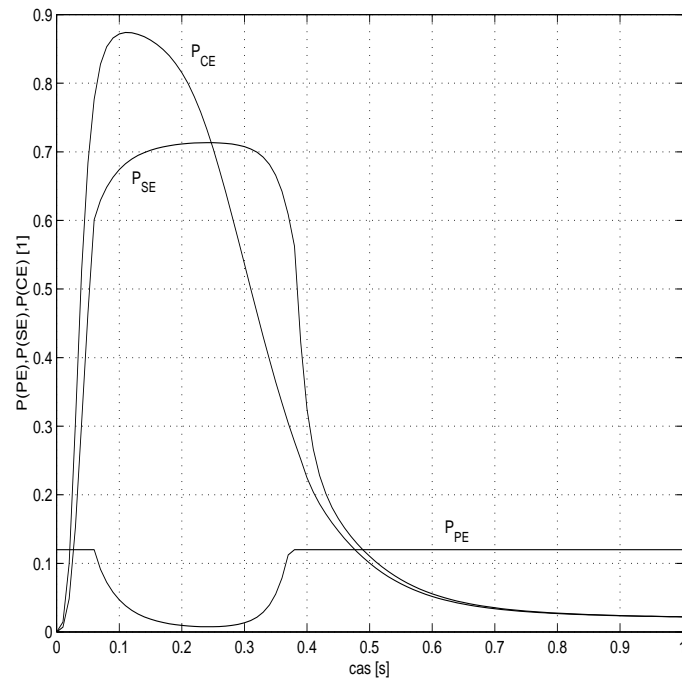
2. Simulace s dopětím $P_A = 0,61$.

Hodnota celkového napětí během této kontrakce je $P = 0,72$. Vzhledem k hodnotě dopětí dochází k přechodu z fáze isometrické do fáze isotonické v čase 60 ms a ke zpětnému přechodu do isometrické fáze v čase 380 ms .

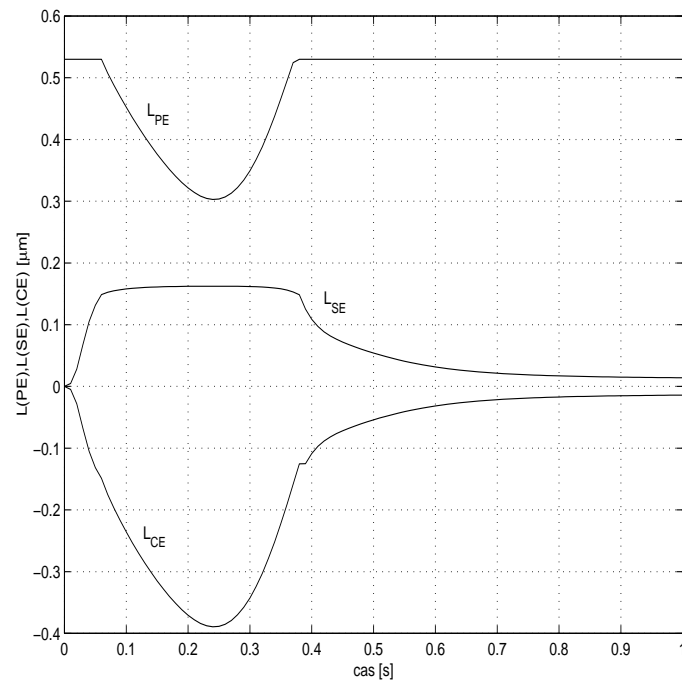
Člen PE a tím celá buňka se při této hodnotě dopětí P_A zkrátí na hodnotu $L = 1,97\ \mu\text{m}$ v čase 245 ms .



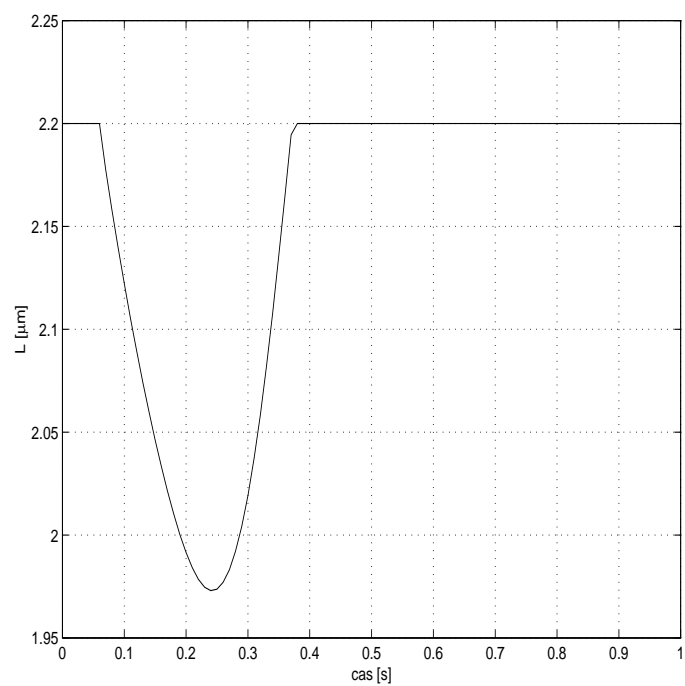
Obrázek 3.18: Celkové napětí během isotonické kontrakce.



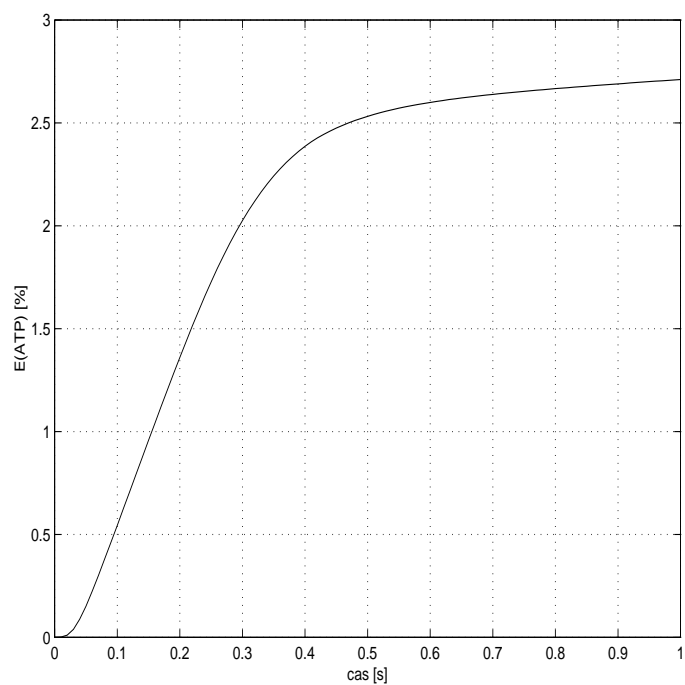
Obrázek 3.19: Napětí jednotlivých členů během isotonické kontrakce.



Obrázek 3.20: Prodloužení (zkrácení) jednotlivých členů.



Obrázek 3.21: Celkové zkrácení buňky během isotonické kontrakce.

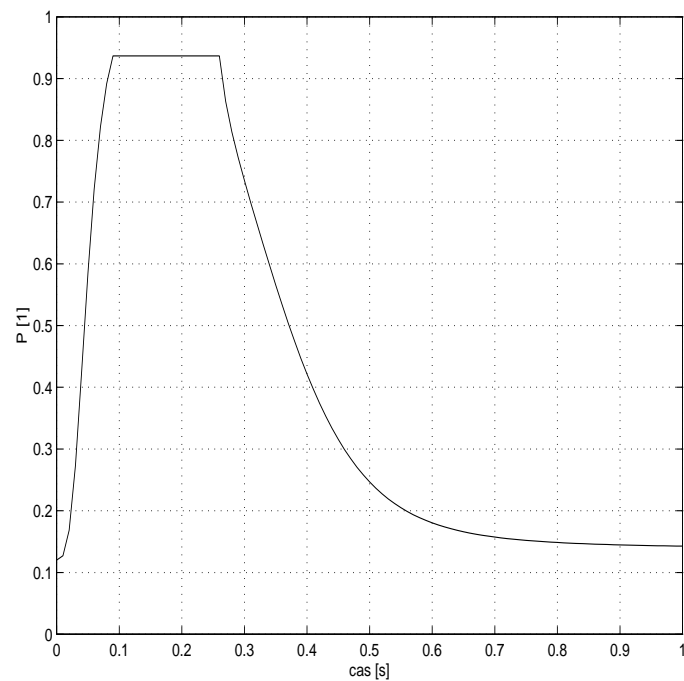


Obrázek 3.22: Energetická náročnost (spotřeba ATP).

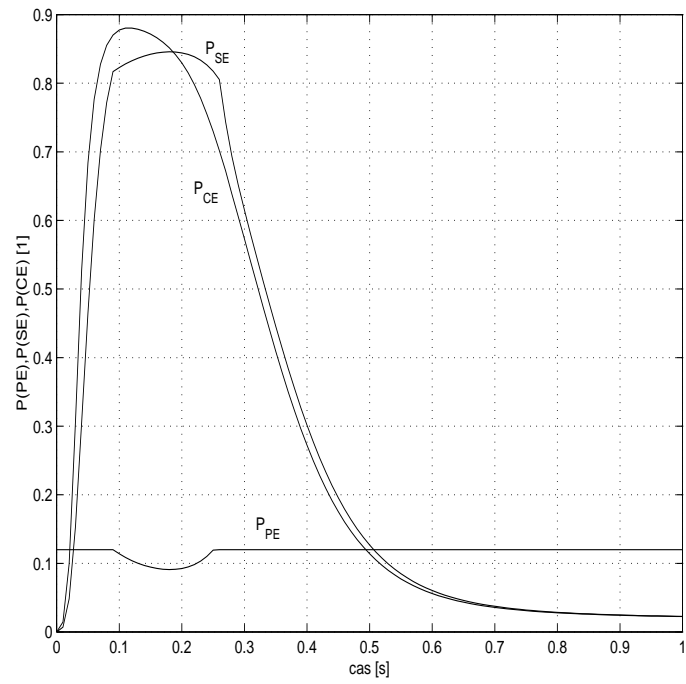
3. Simulace s dopětím $P_A = 0,83$.

Hodnota celkového napětí během této kontrakce je $P = 0,94$. Vzhledem k relativně vyšší hodnotě dopětí se sval stahuje isometricky prvních 90 ms a ke zpětnému přechodu do isometrické fáze dochází už v čase 260 ms .

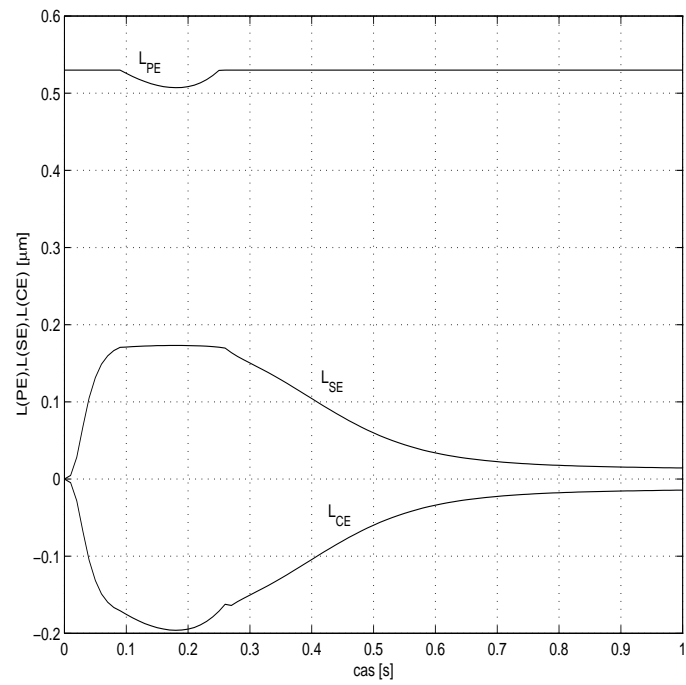
Zkrácení buňky je tedy vzhledem ke krátké době isotonické kontrakce poměrně malé. Buňka se zkrátí z počáteční hodnoty $L_{max} = 2,2\text{ }\mu\text{m}$ na hodnotu $L = 2,177\text{ }\mu\text{m}$ v čase 180 ms .



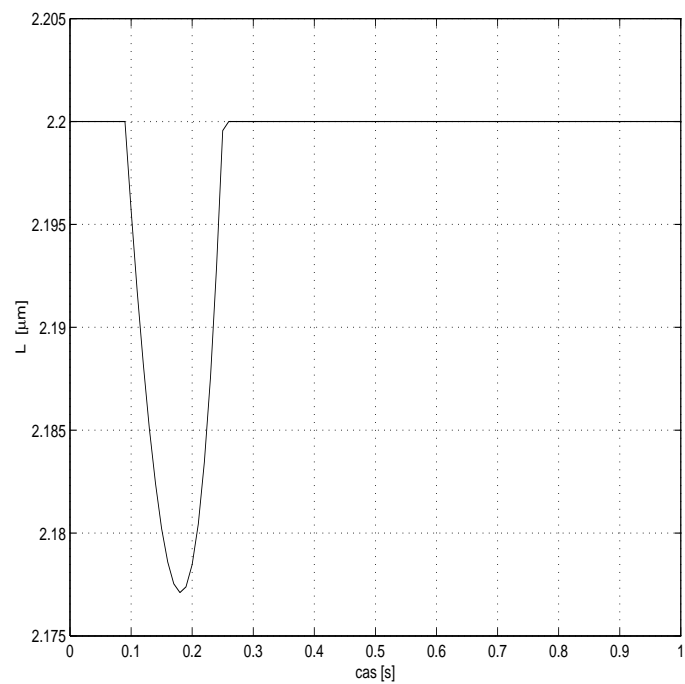
Obrázek 3.23: Celkové napětí během isotonické kontrakce.



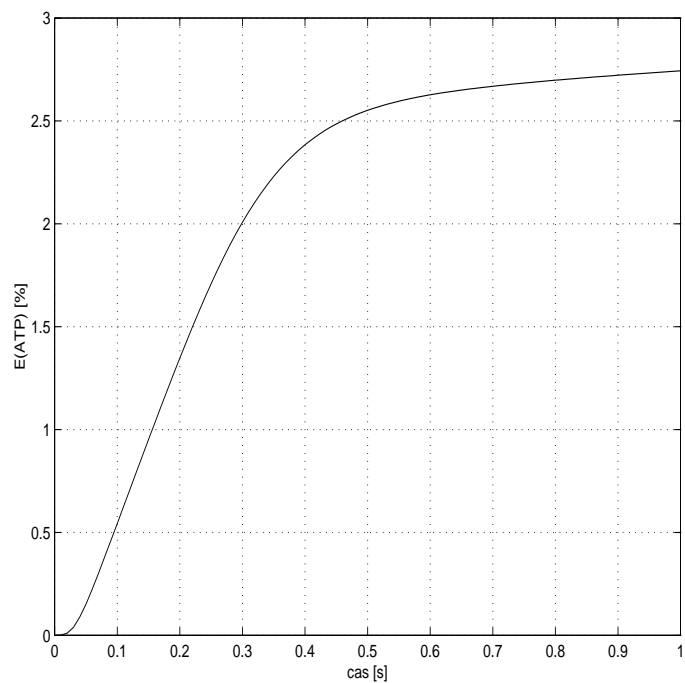
Obrázek 3.24: Napětí jednotlivých členů během isotonické kontrakce.



Obrázek 3.25: Prodloužení (zkrácení) jednotlivých členů.



Obrázek 3.26: Celkové zkrácení buňky během isotonické kontrakce.



Obrázek 3.27: Energetická náročnost (spotřeba ATP).

3.9 Shrnutí a zhodnocení modelu kontraktility

V druhé části práce byl popsán model vlastní kontrakce srdeční buňky. Vstupem do této části je normované množství aktivních míst aktinového filamenta podle práce Michailova et al. 1992 [16].

Byl popsán vznik příčného můstku vycházející z práce Huxley 1957 [9]. Na tomto základě byla vytvořena nová představa mechanického modelu vzniku příčného můstku. Rychlosti reakcí vzniku (resp. zániku) příčných můstků byly převzaty z téže práce s modifikací podle práce Julian 1969 [11] a bylo ověřeno řešení výpočtu množství vznikajících příčných můstků AM pomocí obyčejné diferenciální rovnice (ODE) navržené ve stejné práci. Řešení pomocí parciální diferenciální rovnice (PDE), jak bylo navrženo v práci Panerai 1980 [20], nebylo vzhledem k práci Taylor et al. 1993 [30] dále ověřováno.

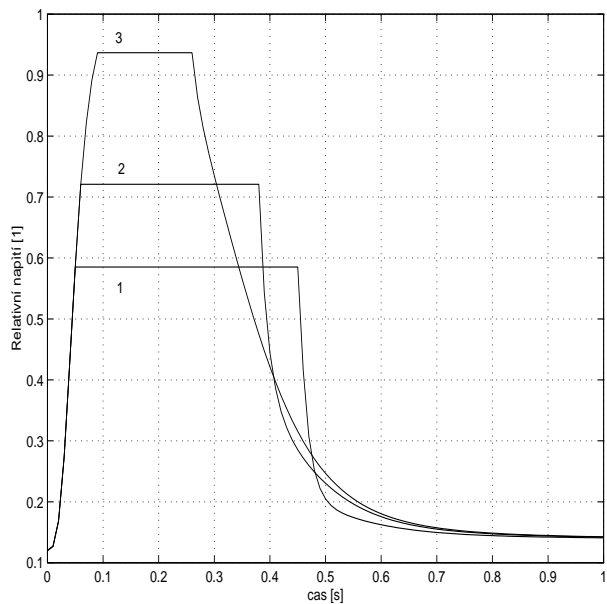
Vlastnosti svalu byly modelovány na základě Hillova (Maxwellova) tříkomponentového modelu skládajícího se z kontraktilního elementu CE seriově spojeného se seriově-elastickým členem SE a k nim paralelně připojeného paralelně-elastického členu PE.

Pro odvození vlastních konstant modelu svalu jsem vycházel z obdobných předpokladů jako Panerai 1980 [20], který ale průběh kontrakce srdečního svalu modeloval pomocí tzv. Voightova modelu svalu (viz. např. [18]).

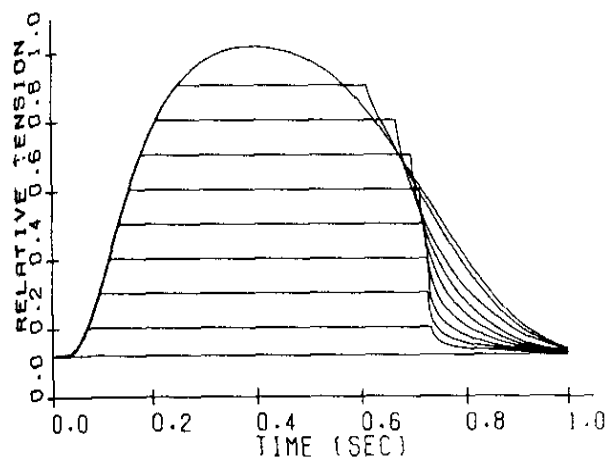
Průběh isometrické kontrakce jsem simuloval podle předpokladů prací Juliana 1969 [11], Michailovy et al. 1992 [16] a Wong 1971 [32]. Při modelování průběhu isotonické kontrakce jsem vycházel z předpokladu prací Panerai 1980 [20] a Wong 1972 [33]. Pokusil jsem se také nastínit energetickou náročnost cyklu kontrakce srdeční buňky podle práce Taylor et al. 1993, 1995 [30, 31].

Pro srovnání jsou následující straně průběhy relativního napětí P a relativního zkrácení buňky pro různé hodnoty předpětí P_A , tak jak byly získány pomocí předkládaného modelu a výsledky, které pomocí svého modelu získal Panerai (1980) [20]. Z grafů je patrné, že se zvyšující se hodnotou P_A dochází k rychlejší relaxaci svalu, tedy poklesu napětí P a celkové zkrácení se zmenšuje. Rozdíl ve výsledcích je dán jinou metodou řešení, neboť Panerai k řešení použil Voightova modelu svalu.

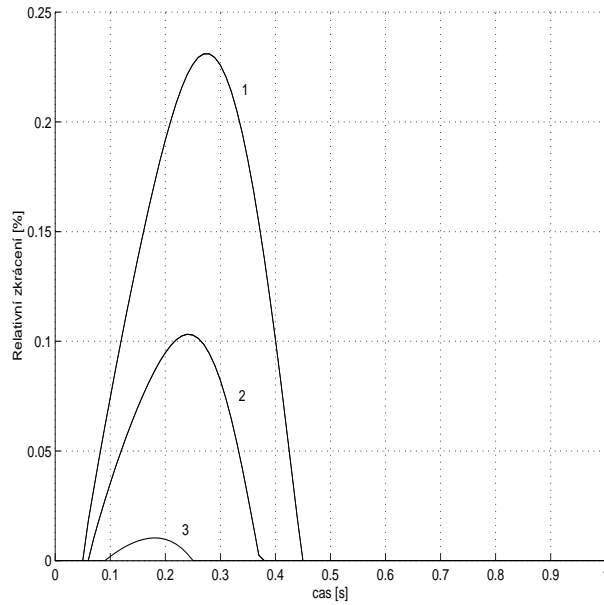
Dále jsou uvedeny grafy napětí a energetické náročnosti uveřejněné Taylorem v práci [30], které byly řešeny pomocí Hillova modelu. V této práci však nejsou uvedeny hodnoty konstant, ale s poukazem na pozdější práci téhož autora [31] se domnívám, že rozdíl může být způsoben právě odlišnou volbou hodnot použitých konstant nebo metodikou řešení, která mi není známa.



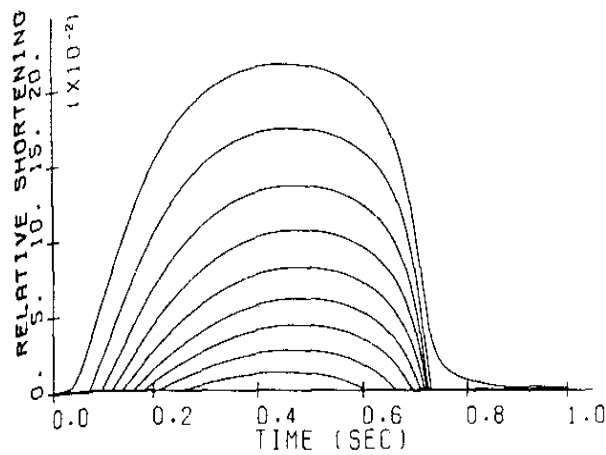
Obrázek 3.28: Relativní napětí P během simulace isotonické kontrakce pro:
 1: $P_A = 0,46$; 2: $P_A = 0,61$; 3: $P_A = 0,83$.



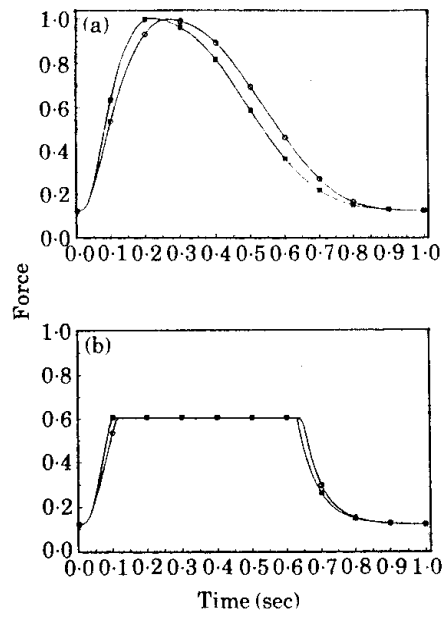
Obrázek 3.29: Relativní napětí P podle práce Panerai (1980) [20], str.937, obr.5A.



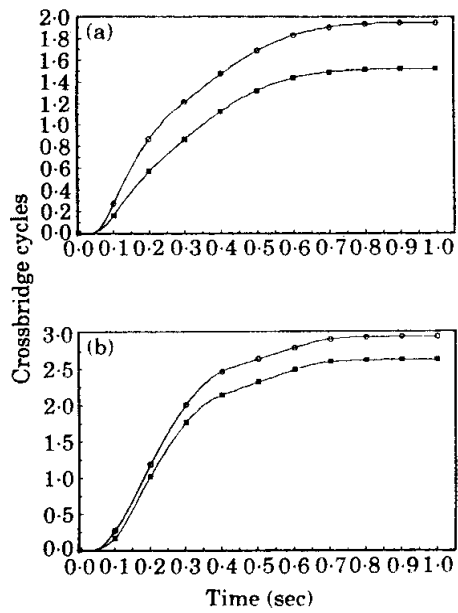
Obrázek 3.30: Relativní zkrácení během simulace isotonické kontrakce pro: 1: $P_A = 0,46$; 2: $P_A = 0,61$; 3: $P_A = 0,83$.



Obrázek 3.31: Relativní zkrácení podle práce Panerai (1980) [20], str.937, obr.5B.



Obrázek 3.32: Napětí versus čas pro: (a) isometrickou kontrakci; (b) isotonickou kontrakci podle Taylora (1993) [30], str.414, obr.2.



Obrázek 3.33: Energetická náročnost pro: (a) isometrickou kontrakci; (b) isotonickou kontrakci podle Taylora (1993) [30], str.414, obr.3.

Kapitola 4

Závěr práce

V předkládané práci je popsán matematický model spřažení excitace s kontrakcí pro jednu srdeční buňku. Pomocí tohoto modelu byl v první části práce simulován průběh toků iontů kalcia Ca^{2+} uvnitř buňky na základě příchodu akčního potenciálu na buněčnou membránu, navazování iontů kalcia na regulační bílkovinu troponin C a odkrytí aktivních míst aktinu. Množství aktivních míst aktinu je vstupem do druhé části modelu. V této části je modelován vznik a zánik příčných můstků a pomocí základního Hillova (Maxwellova) modelu je modelováno napětí jednotlivých členů a změny jejich délky, jakožto i celkové zkrácení svalové buňky během isotonicke kontrakce. Kontrakce buňky byla modelována jak pro isometrickou, tak pro isotonicke kontrakci.

Vlastním přínosem autora bylo především:

- Rozšíření modelu dynamiky kalcia dle Wonga (1981) [34] o navazování kalcia na regulační bílkovinu troponin C dle Michailovy (1992) [16].
- Vytvoření modelu dynamiky kalcia pomocí prostředí Simulink.
- Verifikace rovnic popisujících kontraktilitu srdeční buňky podle prací Wonga (1971,1972) [32, 33], včetně vyhotovení odvození všech použitých vztahů.
- Odvození vlastních konstant elastických členů Hillova modelu podle předpokladů uveřejněných v práci Panerai (1980) [20].
- Adaptace rovnic popisujících kontraktilitu pro řešení pomocí prostředí Matlab a sestavení výpočetního programu.
- Spojení modelu dynamiky kalcia s modelem kontraktility prostřednictvím aktivační funkce $A^*(t)$.
- Simulace kontrakce srdeční svalové buňky.

Pro důkladnou verifikaci modelu s experimenty by bylo nutné přejít k modelování delšího vlákna tak, aby bylo možno přímo porovnat výsledky simulací s výsledky získanými experimenty. Vzhledem k složité prostorové struktuře vláken srdečního svalu, která jsou v srdci v různých směrech, překrývají se atp., nebyla tato problematika v rámci této práce řešena.

Tato práce byla vypracována v rámci grantu GAČR 106/99/0975.

Literatura

- [1] BEELER G.W., REUTER H.: Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres,
J. Physiol. **268** (1977), 177-210
- [2] BRADY A.J.: The three element model of muscle mechanics: its applicability to cardiac muscle,
Physiologist **10** (1967), 75-86
- [3] CAMPBELL K.B., SHROFF S.G., KIRKPATRICK R.D.: Short-time-scale left ventricular systolic dynamics. Evidence for a common mechanism in both left ventricular chamber and heart muscle mechanics,
Circ. Res. **68** (1991), 1532-1548
- [4] FUNG Y.CH.: Mathematical representation of the mechanical properties of the heart muscle,
J. Biomechanics **3** (1970), 381-404
- [5] GANONG W.F.: Přehled lékařské fyziologie,
Nakladatelství a vydavatelství H&H, Jinočany 1995
- [6] GLANTZ S.A.: A three element model describes excised cat papillary muscle elasticity,
Am. J. Physiol. **228** (1975), 284-302
- [7] HENDERSON A.H., VON OCKEN E., BRUTSAERT D.L.: A reappraisal of force-velocity measurements in isolated heart muscle preparations,
Europ. J. Cardiol. **1** (1973), 105-122
- [8] HILL A.V.: Muscular activity,
Williams and Wilkins, Baltimore 1956
- [9] HUXLEY A.F.: Muscle structure and theories of contraction,
Prog. Biophys. Chem. **7** (1957), 255-318
- [10] JEWELL J.W.: A re-examination of the influence of muscle length on myocardial performance,
Circ. Res. **40** (1977), 221-236
- [11] JULIAN F.J.: Activation in a skeletal muscle contraction model with a modification for insect fibrillar muscle,
Biophys. J. **9** (1969), 547-570

- [12] KEENER J., SNEYD J.: *Mathematical Physiology*, Springer-Verlag, New York 1998
- [13] KITTNAR O.: Kvantitativní hodnocení funkce levé komory srdeční, rešeršní práce, *Fyziologický ústav 1. lékařské fakulty UK, Praha 1981*
- [14] KRUEGER J.W., POLLACK G.H.: Myocardial sarcomere dynamics during isometric contraction, *J. Physiol.* **251** (1975), 627-642
- [15] KVASNIČKA J.: Vápník a srdeční stah. Poznámky ke genezi frekvenčních jevů a jejich změnám při hypertrofii myokardu, práce předkládaná k profesorskému řízení, *LF UK Hradec Králové, 1991*
- [16] MICHAILOVA A.P., SPASSOV V.Z.: Theoretical model and computer simulation of excitation-contraction coupling of mammalian cardiac muscle, *J. Mol. Cell. Cardiol.* **24** (1992), 97-104
- [17] MICHAILOVA A.P., SPASSOV V.Z.: Computer simulation of excitation-contraction coupling in cardiac muscle. A study of regulatory role of calcium binding to troponin C, *Gen. Physiol. Biophys.* **16** (1997), 29-38
- [18] MIRSKY I, GHISTA D.N., SANDLER H.: *Cardiac mechanics: physiological, clinical and mathematical considerations*, John Wiley & Sons Inc., New York 1974
- [19] NEUMANN J.: Analýza dynamických vlastností matematického modelu srdečního kontraktálního systému, *Diplomová práce, ČVUT Fakulta strojní, Praha 1999*
- [20] PANERAI R.B.: A model of muscle mechanics and energetics, *J. Biomechanics* **13** (1980), 929-940
- [21] PARMLEY W.W., SONNENBLICK E.H.: Series elasticity in heart muscle: its relation to contractile element velocity and proposed muscle models, *Circulation Res.* **20** (1967), 112-123
- [22] ROBERTSON S.P., JOHNSON D., POTTER J.D.: The time-course of Ca^{2+} exchange with calmodulin, troponin, parvalbumin, and myosin in response to transient increases in Ca^{2+} , *Biophys. J.* **34** (1981), 559-569
- [23] SILBERNAGL S., DESPOPOULOS A.: *Atlas fyziologie člověka*, Avicenum, Praha 1981
- [24] SONNENBLICK E.H.: Force-velocity relations in mammalian heart muscle, *Am. J. Physiol.* **202** (1962), 931-954
- [25] SONNENBLICK E.H.: Series elastic and contractile elements in heart muscle: changes in muscle length, *Am. J. Physiol.* **207** (1964), 1330-1338

- [26] SONNENBLICK E.H., STAM A.C.: Cardiac muscle: activation and contraction,
A. Rev. Physiol. **31** (1969), 647-674
- [27] SOUKUP J.: Identifikace soustav,
SNTL, Praha 1990
- [28] ŠLICHTA J., PÁSEK M., BROŽKOVÁ K.: Computational model of cardiac cell contraction,
příspěvek konference, Biomechanics of Man, Olomouc 2000
- [29] ŠRÁMEK B.B., VALENTA J., KLIMEŠ F.: Biomechanics of the cardiovascular system,
Czech Technical University Press, Praha 1995
- [30] TAYLOR T.W., GOTO Y., SUGA H.: On the solutions of Huxley-type models in cardiac muscle fiber contractions,
J. theor. Biol. **165** (1993), 409-416
- [31] TAYLOR T.W., GOTO Y., HATA K., TAKASAGO T., SAEKI A., NISHIOKA T., SUGA H.: Cardiac quick-release contraction mechanoenergetics analysis using a cardiac muscle cross-bridge model,
Am. J. Physiol. **268** (1995), H2544-H2552
- [32] WONG A.Y.K.: Mechanics of cardiac muscle, based on Huxley's model: mathematical simulation of isometric contraction,
J. Biomechanics **4** (1971), 529-540
- [33] WONG A.Y.K.: Mechanics of cardiac muscle, based on Huxley's model: simulation of active state and force-velocity relation,
J. Biomechanics **5** (1972), 107-117
- [34] WONG A.Y.K.: A model of excitation-contraction coupling of mammalian cardiac muscle,
J. Theoretical. Biology **90** (1981), 37-61
- [35] WONG A.Y.K., FABIATO A., BASSINGTHWAIGHTE J.B.: Model of calcium-induced calcium release mechanism in cardiac cells,
Bulletin of Mathematical Biology **54** (1992), 95-116
- [36] ZÍTEK P.: Simulace dynamických systémů,
SNTL, Praha 1990
- [37] ZÍTEK P., PETROVÁ R.: Matematické a simulační modely,
skriptum, Vydavatelství ČVUT, Praha 1996

Příloha A

Přehled použitého značení

A	vazebné místo aktinu
$A^*(t)$	poměrné množství aktivních míst aktinu
AM	příčný můstek (aktinomyozinový komplex)
A_{max}	maximální koncentrace aktivních míst aktinu
AP	akční potenciál
APP	akční potenciál pacemakeru
ARP	absolutní refrakterní fáze
$A(t)$	množství aktivních míst aktinu, místa schopná vazby s myozinem
ATP	molekula adenosintrifosfátu, zdroj energie
AV	atrioventrikulární uzel
Ca_{CSR}	množství iontů kalcia v cisterním sarkoplazmatickém retikulu
Ca_{CSR0}	počáteční (klidové) množství iontů kalcia v cisterním sark. retikulu
Ca_{LSR}	množství iontů kalcia v longitudinálním sark. retikulu
Ca_{LSR0}	počáteční (klidové) množství iontů kalcia v longitudinálním sark. retikulu
Ca_m	množství iontů kalcia v mitochondriích
Ca_{m0}	počáteční (klidové) množství iontů kalcia v mitochondriích
Ca_o	množství extracelulárního kalcia
Ca_{sp}	množství iontů kalcia v sarkoplazmě
Ca_{sp0}	počáteční (klidové) množství iontů kalcia v sarkoplazmě
CE	kontraktilní člen
CSR	cisterní sarkoplazmatické retikulum
d_0, f_0	počáteční hodnoty funkcí $d(t)$, $f(t)$
d_∞, f_∞	ustálené hodnoty funkcí $d(t)$, $f(t)$
$d(t), f(t)$	pravděpodobnostní funkce otevření (uzavření) kalciových kanálů v buněčné membráně
E_{ATP}	energetická náročnost cyklu kontrakce
E-C	excitation-contraction coupling (spřažení excitace s kontrakcí)

$E(t)$	membránový potenciál
E_R	reverzní membránový potenciál
f, g	rychlost reakcí vzniku (zániku) příčného můstku
\bar{g}_s	maximální vodivost buněčné membrány
H	Hisův svazek
h	maximální vzdálenost, při které se hlavička myozinu ještě může navázat na aktivní místo aktinu
I_s	proud iontů kalcia přes buněčnou membránu
k_1, \dots, k_9	rychlostní konstanty toků kalcia mezi jednotlivými kompartmenty
k_{on}^T, k_{off}^T	rychlostní konstanty navazování (vyvazování) kalcia na troponin C
K_{PE}, K_{SE}, K_{CE}	tuhosti jednotlivých členů
k_m	tuhost příčného můstku
k_p, k_s	konstanty charakterizující členy PE, SE
L_0	klidová délka buňky (celkové napětí je nulové)
L_{max}	délka buňky, při které je vyvinuté napětí isometrické kontrakce maximální
L_{PE}, L_{SE}, L_{CE}	délky jednotlivých členů
LSR	longitudinální sarkoplazmatické retikulum
M	hlavička myozinu (vazebné místo)
m	mitochondrie
P	Purkyňova vlákna
P	celkové napětí buňky
P_A	dopětí (afterload)
P_0, P_L	konstanty charakterizující členy PE, SE
P_M	maximální napětí isotonické kontrakce
P_{PE}, P_{SE}, P_{CE}	napětí jednotlivých členů
PE	paralelní elastický člen
PR,LR	pravé (levé) Tawarovo raménko
RRP	relativní refrakterní fáze
SA	sinoatriální uzel
SE	seriový elastický člen
SR	sarkoplazmatické retikulum
T	perioda kontrakce srdečního svalu
T	tropomyozin
Tn-C	troponin C
$trop$	množství vazebných míst troponinu (navazuje se kalcium)
u	poměrná vzdálenost x
x	vzdálenost aktivního místa aktinu od rovnovážné polohy myozinové hlavičky
τ_d, τ_f	časové konstanty funkcí $d(t), f(t)$

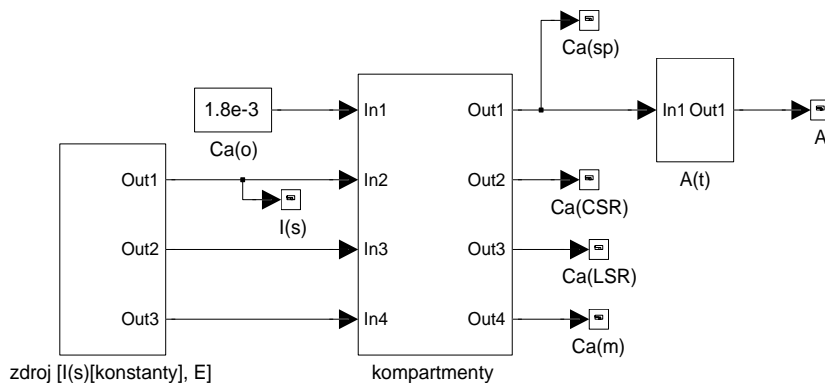
Použité značení jednotek

A	ampér
M	mól
S	Siemens
s	sekunda
V	volt
μm	mikrometr
Å	Åengstrom ($10^{-10} m$)

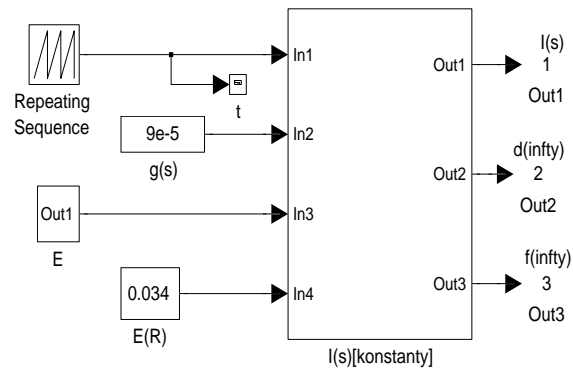
Příloha B

Simulinkovská schemata modelu dynamiky kalcia

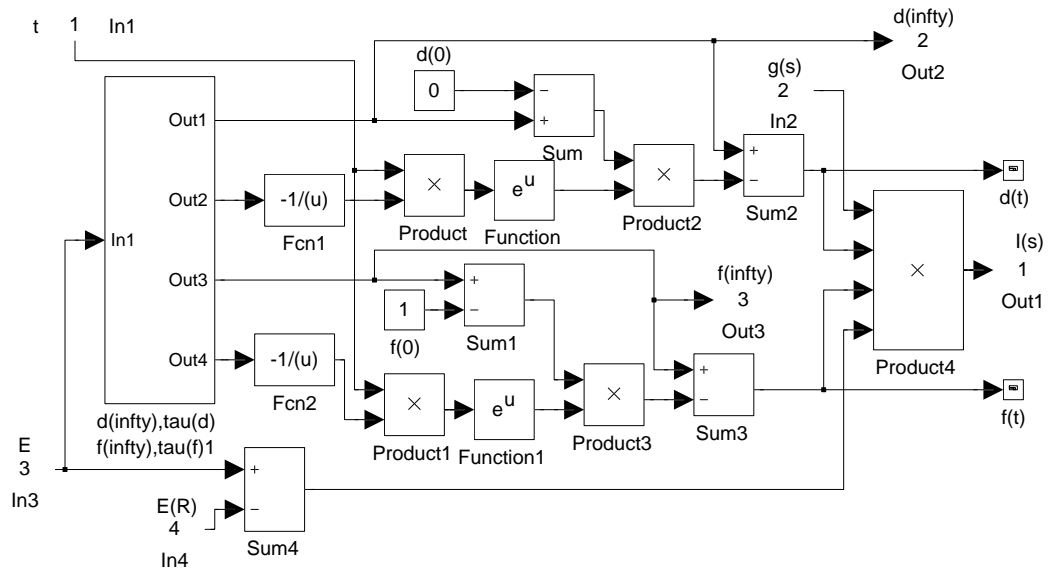
V prostředí Simulinku je model dynamiky kalcia členěn v systémy, které obsahují subsystémy v několika hierarchických úrovních. Aby bylo možno si celkové schéma představit, jsou na obrázcích této přílohy zachyceny všechny důležité (sub)systémy simulinkovského modelu.



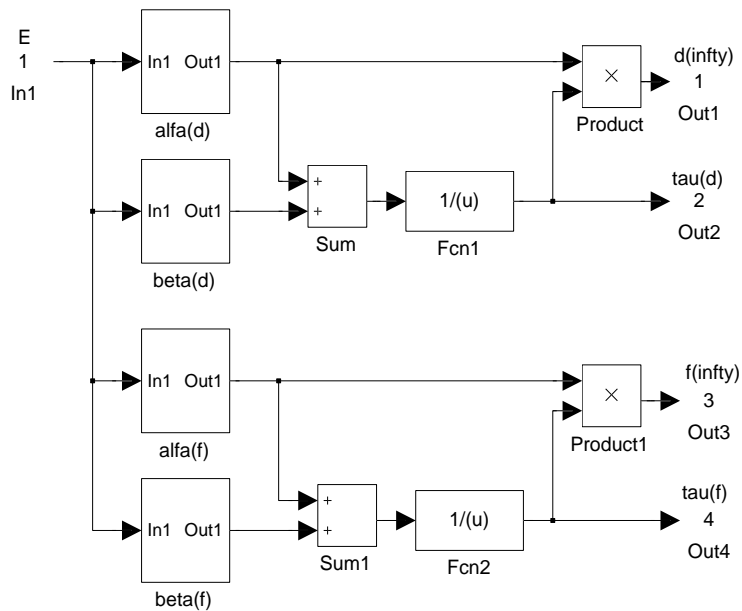
Obrázek B.1: Hlavní (základní) schéma modelu.



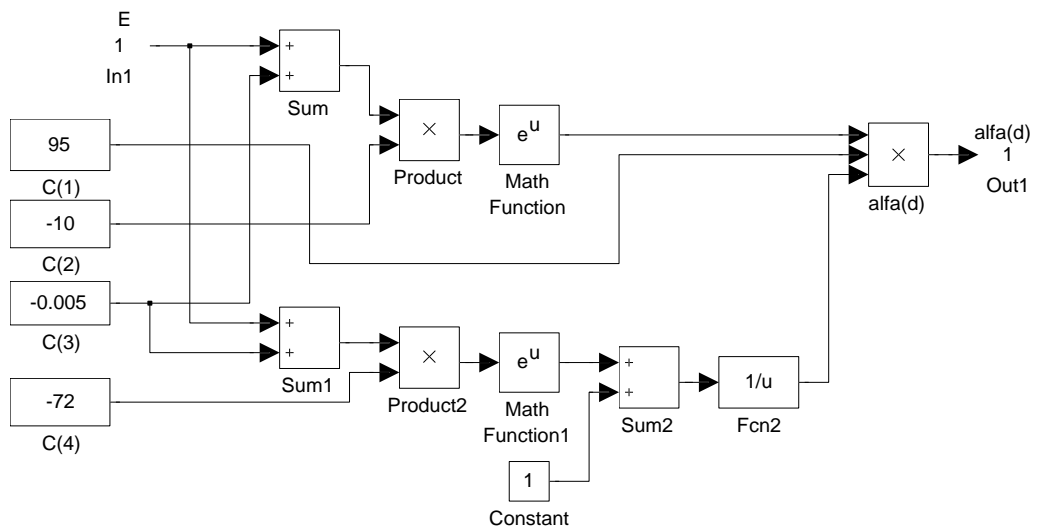
Obrázek B.2: Zdroj proudu kalcia a hodnot d_∞ , f_∞ (vstup do subsystemu kompartmenty).



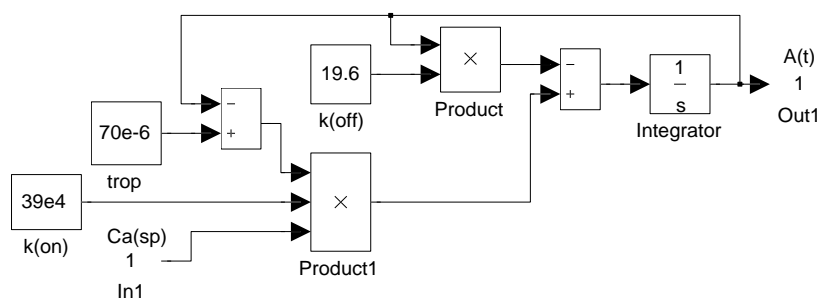
Obrázek B.3: Zdroj proudu kalcia I_s .



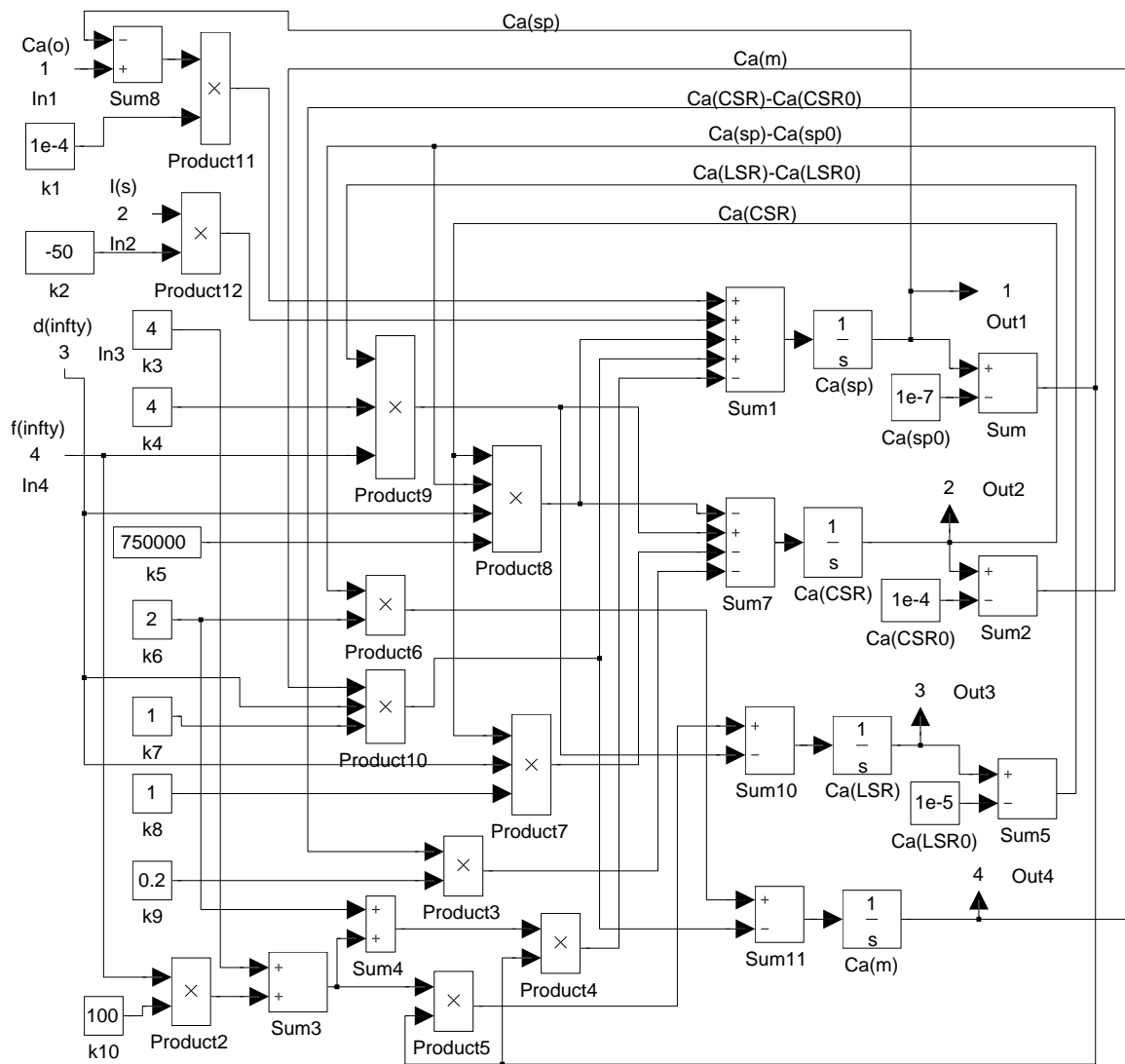
Obrázek B.4: Konstanty $\tau_d, \tau_f, d_\infty, f_\infty$ pro výpočet pravděpodobnostních funkcí otevření kalciových kanálů $d(t), f(t)$.



Obrázek B.5: Výpočet rychlostní konstanty α_d (rychlostní konstanty $\beta_d, \alpha_f, \beta_f$ jsou modelovány obdobným způsobem).



Obrázek B.6: Výpočet koncentrace aktivních míst aktinu $A(t)$.



Obrázek B.7: Subsystem výpočtu koncentrací kalcia v kompartmentech.

Příloha C

Výpis programu simulace kontrakce

program - strana 1

```
%program na vypocet kontrakce srdecni bunky
```

```
clear all  
clf  
load aktin
```

```
%doba simulace [s]
```

```
T=1;
```

```
%krok:
```

```
DT=0.01;
```

```
%celkovy pocet kroku:
```

```
IT=T/DT;
```

```
P_A = 0.4;          % dopeti (afterload)
```

```
c=1
```

```
f1 = c*133.5;
```

```
g1 = c*21.5;
```

```
g2 = c*229.0;
```

```
%konstanty :
```

```
k_s = 12.05;
```

```
k_m = 2.32;
```

```
P_0 = 0.0002024;
```

```
k_p = k_s;
```

```
L_0 = 1.67;
```

```
L_max = 2.2;
```

```
L_PE(1)= L_max - L_0;
```

```
P_PE(1) = P_0 * ( exp(k_p*L_PE(1)) - 1 );
```

```
P_L = P_PE(1);
```

program - strana 2

```
%sire intervalu vyznamnosti u (prirazeni indexu):
SI = 51; %pocet deleni dle u
u(1)=-2;
for j=2:SI
    u(j)= u(1) + 0.1*j - 0.1;
end
%krok u:
DU = 0.1;
```

```
%pocatecni(okrajove) podminky:
for j=1:SI
    AM0(1,j)= 0;
    AM0(2,j)= 0;
end
```

```
t(1) = 0;
P_CE(1) = 0;
K_CE(1) = 0;
P_SE(1) = 0;
P(1) = P_PE(1) + P_SE(1);
P_M = P_L + P_A;
L_SE(1) = 0;
L_CE(1) = 0;
err(1) = 0;
E_ATPt(1) = 0;
E_ATP(1) = 0;
b=1;
```

program - strana 3

```

% hlavni cyklus (casovy krok)*****/
for i=1+1:IT+1
    %cas od pocatku simulace
    t(i)= (i-1)*DT
    %aktivacni funkce A*:
    A(i) = (A(i-1) + A(i)) / 2;

    %vypocet hodnot jednotlivych AM *****
    % pro u = (-2,-0.1):
    for j=1:20
        f(j) = 0;
        g(j) = g2;
        AM(i,j) = AM0(i,j) * exp(-g(j)*DT);
    end
    % pro u = (0,0.9)
    for j=21:30
        f(j) = A(i)*f1*u(j) ;
        g(j) = g1*u(j) ;
        IS0ss = f(j) / (f(j)+ g(j));
        CIT = f(j) - (f(j)+ g(j))*AM0(i,j);
        JME = (f(j)+g(j))* exp( (f(j)+ g(j))*DT );
        AM(i,j) = IS0ss - CIT/JME;
    end
    % pro u = (1.0,3.0)
    for j=31:SI
        f(j) = 0 ;
        g(j) = g1*u(j) ;
        AM(i,j) = AM0(i,j) * exp(-g(j)*DT);
    end
    %*****/

    % CE clen ,tj. P_CE a K resp. K_CE): *****/
    % nejprve vypocet vahovych funkci:
    for j=1:SI
        vaha(j) = AM(i,j) * u(j);
    end
    %integrace:
    Pn_CE = 0;    %nutno vynulovat v kazdem kroku i
    for j=1:SI-1
        Pn_CE = Pn_CE + (vaha(j)+ vaha(j+1))/2 * DU;
    end

    P_CE(i) = k_m * Pn_CE;

```

program - strana 4

```
%vypocet K resp K_CE:
%integrace:
Kn_CE = 0; %nutno vynulovat v kazdem kroku i
for j=1:SI-1
    Kn_CE = Kn_CE + (AM(i,j)+AM(i,j+1))/2 * DU;
end

K_CE(i) = k_m * Kn_CE;
%*****/

% isometricka cast :
if P(i-1) < P_M | P_PE(i-1) > P_PE(1)
    if P_PE(i-1) > P_PE(1)
        P_PE(i-1)=P_PE(1);
        L_PE(i-1)=L_PE(1);
    end

% vypocet zkraceni sarkomery : *****/
P1 = P_CE(i);
P2 = K_CE(i);
P3 = P_L;
P4 = k_s;
P5 = L_SE(i-1);
Fce=inline('P1 - P3*(exp(P4*x)-1) - (x-P5)*P2 - (x-P5)*P4*(P3*(exp(P4*x)-1)+P3)',5);
%options = optimset('TolX',1e-16);
[hodnota,chyba] = fzero(Fce,0,[],P1,P2,P3,P4,P5);

L_SE(i) = hodnota;
err(i) = chyba;

L_CE(i) = L_SE(i);
PL = L_SE(i) - L_SE(i-1);

%vypocet napeti od posuvu:
P_SE(i) = P_L * ( exp(k_s*L_SE(i)) - 1 );
k_SE(i) = k_s*(P_SE(i-1)+P_L);

L_PE(i)= L_max - L_0;
P_PE(i) = P_0 * ( exp(k_p*L_PE(i)) - 1 );

%celkove napeti
P(i) = P_PE(i) + P_SE(i);
```

program - strana 5

```
else %isotonicka cast
    if b==1
        P_M = P(i-1)
        b=0
    end

    DL_CE(i) = ( P_CE(i)-P_SE(i-1))/(K_CE(i)+k_SE(i-1));
    L_CE(i) = L_CE(i-1) + DL_CE(i)

    k_PE(i) = k_p*(P_PE(i-1)+P_0)
    k_SE(i) = k_s*(P_SE(i-1)+P_L)

    DL_PE(i) = DL_CE(i)/(1 + k_PE(i)/k_SE(i))
    L_PE(i) = L_PE(i-1) - DL_PE(i)

    P_PE(i) = P_0 * ( exp(k_p*L_PE(i)) - 1 )
    P_SE(i) = P_M - P_PE(i)

    DL_SE(i) = DL_CE(i) - DL_PE(i);
    L_SE(i) = L_SE(i-1) + DL_SE(i);

    P(i) = P_PE(i) + P_SE(i);
end

% vypocet energie *****/
for j=1:SI
    en_vaha(j) = g(j)*AM(i,j);
end
% integrace energie
pom = 0;
for j=1:SI-1
    pom = pom + (en_vaha(j)+en_vaha(j+1))/2 * DU;
end
E_ATPt(i) = pom;
E_ATP(i) = 1/T * ( E_ATP(i-1) + E_ATPt(i) );

%korekce AMO pro dalsi casovy krok podle posuvu:
ip = ceil( abs( PL/DU ) ); % index posunuti
pom_posuv = ip* DU;
korekce = pom_posuv - abs(PL);

%nastaveni indexu j resp. k, od ktereho se bude korigovat n0 dalsi cas. vrstvy
%nalezeni prvni nenulove hodnoty AM(i,j) zleva:
for j=1:SI
    if AM(i,j) ~= 0
        break;
    end
end
end
```

program - strana 6

```
%nastaveni prvnioho indexu zleva ,pro který se uz bude provadet korekce:
if PL > 0
    k = j - ip;
else
    k = j + ip;
end

%nastaveni hodnot tech AMO, které se posuvem zmeni:
if L_CE(i)>0
    for j=1:SI-ip
        AMO(i+1,j) = (AM(i,j+ip-1)-AM(i,j+ip))/DU * korekce + AM(i,j+ip);
    end
else
    for j=1+ip:SI-1
        AMO(i+1,j) = (AM(i,j-ip+1)-AM(i,j-ip))/DU * korekce + AM(i,j-ip);
    end
end

% konec hlavniho cyklu *****/
end

% Graficky vystup vysledku simulace

figure(1)
plot(0:0.01:1,P,'k')
grid on
xlabel('cas [s]');
ylabel('P [1]')

figure(2)
plot(0:0.01:1,P_PE,'k')
hold on
plot(0:0.01:1,P_SE)
plot(0:0.01:1,P_CE,'r')
grid on
xlabel('cas [s]');
ylabel('P(PE),P(SE),P(CE) [1]')

figure(3)
plot(0:0.01:1,L_PE,'k')
hold on
plot(0:0.01:1,L_SE)
plot(0:0.01:1,- L_CE,'r')
grid on
xlabel('cas [s]');
ylabel('L(PE),L(SE),L(CE) [\mum]')
```


program - strana 7

```
figure(4)
plot(0:0.01:1,L_PE + L_0,'k')
grid on
xlabel('cas [s]');
ylabel('L [\mum]')
```

```
figure(5)
plot(0:0.01:1,E_ATP/100,'k')
grid on
xlabel('cas [s]');
ylabel('E(ATP) [%]')
```

```
figure(6)
plot(0:0.01:1,-(-L_max+L_PE+L_0)/L_max,'k')
grid on
xlabel('cas [s]');
ylabel('Relativní zkrácení [%]')
```

Příloha D

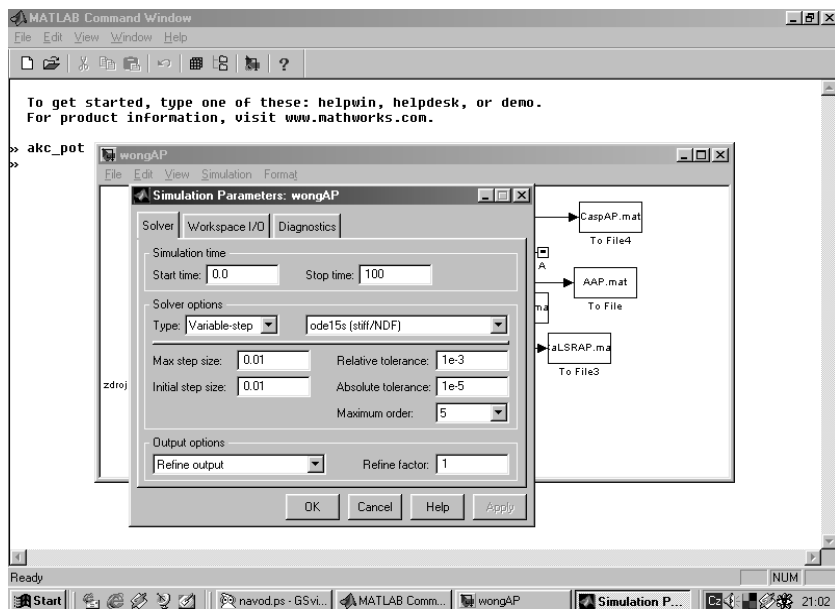
Návod k použití simulačních programů

Dynamika intracelulárního kalcia

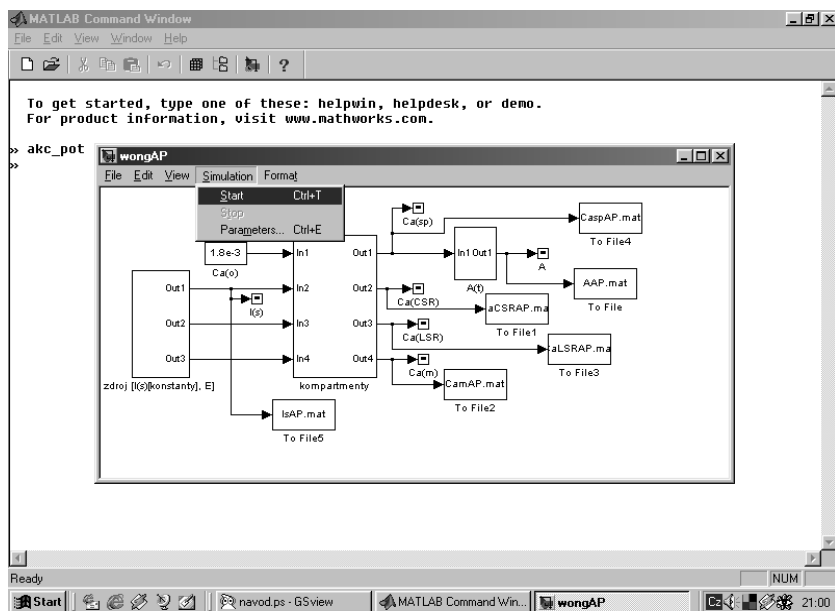
Modely jsou umístěny v adresáři `Modely\Dynamika_Ca`. Po spuštění prostředí Matlab - Simulink a otevření souboru s modelem je třeba nastavit v menu *Simulation\Parameters...* příslušné parametry: dobu simulace (100 s) a zvolit vhodnou numerickou metodu s ohledem na to, že daný systém je typu stiff např. ode 15s (stiff/NDF). Nastavení parametrů simulace je na obrázku D.1. K simulaci jsou připraveny dva modely v souborech:

1. `Dyn_E` - buzení akčním potenciálem obdélníkového tvaru.
2. `Dyn_AP` - buzení akčním potenciálem tvaru skutečného akčního potenciálu. Před spuštěním vlastní simulace je třeba v tomto případě nutno nejprve spustit z příkazové řádky m-file `akc_pot`, ve kterém se připraví hodnoty akčního potenciálu s krokem simulace $DT = 0,01$ s pro maximální čas simulace 200 s. Proměnné jsou uloženy ve vektoru `a_pp`, který obsahuje v prvním sloupci hodnoty času a ve druhém vlastní hodnoty akčního potenciálu. Načítání akčního potenciálu pak při simulaci probíhá z prostředí `workspace`. Start simulace je zachycen obrázkem D.2. Soubor `akc_pot.m` je samozřejmě také možno editovat pro zjemnění kroku simulace. Je ale nutno uvažovat, že dojde k odpovídajícímu prodloužení doby simulace.

Během simulace jsou hodnoty všech důležitých proměnných zobrazovány grafy na obrazovku a současně zapisovány do souborů. Z nich nejdůležitější je soubor `AAP.mat`, který obsahuje časový průběh množství aktivních míst aktinového filamenta, při buzení akčním potenciálem tvaru skutečného akčního potenciálu.



Obrázek D.1: Nastavení parametrů simulace.



Obrázek D.2: Vlastní start simulace dynamiky kalcia.

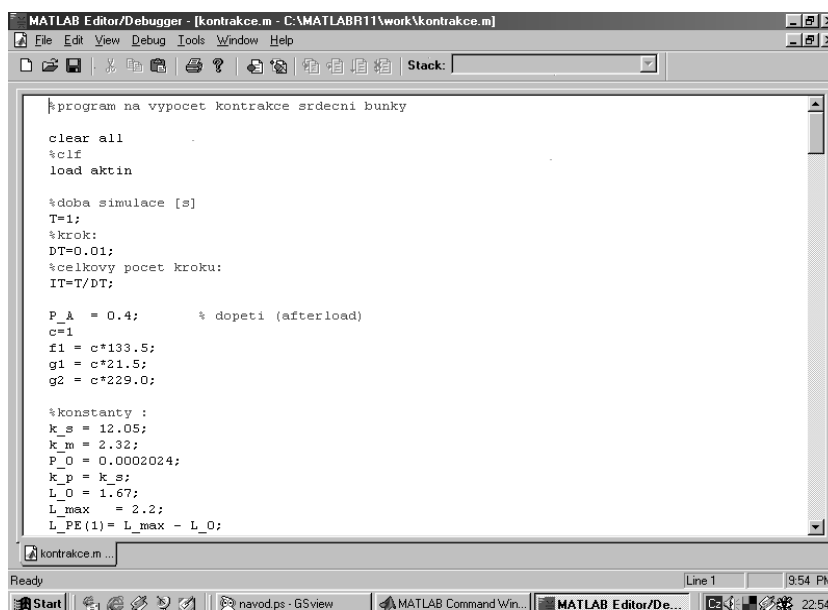
Kontraktilita srdeční buňky

Jako vstupu do modelu je použita normovaná hodnota koncentrace aktivních míst aktinového filamenta $A^*(t)$. Tuto si lze připravit spuštěním m-file `astar.m` z příkazové řádky, která připraví aktivační funkci z vektoru AAP uloženého ve stejnojmenném souboru dat `AAP.mat` z dat dosažených v rozmezí 99,00 – 100,00 s času simulace s krokem $DT = 0,01$ s. Simulace kontrakce srdeční buňky totiž probíhá pro jeden cyklus srdeční revoluce s periodou $T = 1$ s. Vektor aktivační funkce A^* je poté uložen do vektoru proměnné A v souboru `aktin.mat`.

Soubor obsahující vlastní model kontraktility srdeční buňky je uložen v adresáři `Modely\Kontraktilita` v souboru `kontrakce.m`.

Proměnnou P_A je nastavována hodnota dopětí P_A , která rozhoduje jestli kontrakce bude isometrická či isotonická, resp. jaký bude vzájemný poměr časového rozmezí obou fází kontrakce. Pokud chceme simulovat pouze isometrickou kontrakci, je nutno nastavit hodnotu $P_A \geq 1$ v editoru/debuggeru (viz. obrázek D.3).

Po proběhnutí simulaci jsou všechna důležitá data zobrazena pomocí grafů na obrazovce a zůstávají také k dispozici v prostředí `workspace` až do příštího spuštění modelu `kontrakce.m`, které vyčistí pracovní prostředí `workspace` a také vymaže všechny grafy.



```
program na vypocet kontrakce srdečni bunky

clear all
%clif
load aktin

%doba simulace [s]
T=1;
%krok:
DT=0.01;
%celkovy pocet kroku:
IT=T/DT;

P_A = 0.4; % dopeti (afterload)
c=1
f1 = c*133.5;
g1 = c*21.5;
g2 = c*229.0;

%konstanty :
k_s = 12.05;
k_m = 2.32;
P_0 = 0.0002024;
k_p = k_s;
L_0 = 1.67;
L_max = 2.2;
L_PE(1) = L_max - L_0;
```

Obrázek D.3: Úprava souboru `kontrakce.m` pomocí editoru/debuggeru.

Prohlášení

Prohlašuji, že předkládanou diplomovou práci jsem vypracoval samostatně s tím, že její výsledky mohou být dále využity podle uvážení vedoucího diplomové práce jako jejího spoluautora. Souhlasím také s případnou publikací výsledků diplomové práce nebo její podstatné části, pokud budu uveden jako její spoluautor.

Dne: 28. 6. 2001

podpis

Poděkování

Děkuji svému vedoucímu Doc. Ing. Janu Soukupovi, CSc. za vstřícnost, ochotu a laskavost s jakou mne po celou dobu mé práce vedl. Děkuji Doc. Ing. Vladimíru Novákovi, CSc. z Fyziologického ústavu 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze, který určil základní směr mé práce, za cenné připomínky a komentáře. Děkuji RNDr. Jaroslavu Novotnému, PhD. za pomoc s přípravou textu pomocí editoru L^AT_EX. Děkuji svým rodičům za podporu po celou dobu studia. Děkuji také všem ostatním, kteří jakkoli přispěli ke vzniku této práce.